Archiv

für

Protistenkunde

begründet von

Dr. Fritz Schaudinn

herausgegeben

von

Dr. M. Hartmann und **Dr. S. von Prowazek**
Berlin Hamburg.

Siebzehnter Band.

Mit 18 Tafeln und 93 Textfiguren.

JENA.
Verlag von Gustav Fischer
1909.

Inhaltsübersicht.

Erstes Heft.

Zweites Heft.

Drittes Heft.

Le parasitisme d'une Chytridinée du genre *Sphærita* Dangeard chez *Amœba limax* Dujard. Etude comparative.

Par

Edouard Chatton,
Préparateur à l'Institut Pasteur de Paris.

et

A. Brodsky,
Docteur de l'université de Genève.

(Avec 6 figures dans le texte.)

I. L'hôte.

Nous avons trouvé le parasite qui fait l'objet de ce travail dans une amibe que notre ami de Beauchamp avait vue se développer en grande abondance dans une macération de déchets organiques préparée pour l'élevage des Rotifères. Cette culture renfermait aussi de nombreux Protozoaires de tous ordres dont aucun ne nous a paru infesté. L'amibe parasitée répondait bien à la description que Penard (1902) donne de l'*Amœba limax* Dujardin. Mais cette description a été établie uniquement d'après des caractères observés *in vivo*, et il paraît maintenant absolument illusoire d'arriver à une spécification tant soit peu rigoureuse par la considération de ces seuls caractères. Plus encore que de confondre simplement, à cause de leur polymorphisme, deux espèces voisines, on s'expose à rapprocher ou à identifier des formes appartenant à des êtres dont les cycles évolutifs sont très différents et qui n'ont de commun que l'existence d'un état amœboïde à un stade quelconque de leur évolution. De telles erreurs seront d'autant plus faciles à commettre qu'on aura

affaire à des formes passant pour très communes, et étudiées par un grand nombre d'auteurs.

C'est le cas de l'*Amœba limax*, de l'aveu même de PENARD qui dit à la suite de sa diagnose: „Cette description s'applique à une amibe que l'on rencontre un peu partout et qui peut être considérée comme une espèce type, mais il faut bien avouer que le terme *Amœba limax* devra être considéré, non comme constituant une forme spécifique précise, mais comme représentant tout un groupe d'amibes différentes les unes des autres mais se rapprochant par les caractères généraux qui viennent d'être indiqués. Si l'on ajoute qu'un nombre considérable d'espèces bien caractérisées, tout en gardant leurs caractères bien nets, peuvent prendre momentanément la forme *limax*, on reconnaîtra que les observations sur ce groupe ne sont pas aisées."

DANGEARD (1896) avait déjà d'autre part signalé la ressemblance très grande des myxamibes des Acrasiées (*Sappinia pedata* DANG. et *Copromyxa protea*) avec *Amœba limax*. De nombreux cas de ce genre pourraient être cités. Aussi, et en complète conformité d'idées avec DOFLEIN, qui a déjà insisté (1907 b) sur l'incertitude de nos connaissances taxonomiques relatives aux amibes, nous dirons dès maintenant que ce n'est que pour l'objectivité du langage, et non comme nom spécifique, que nous conservons le terme d'*Amœba limax*. Le mieux eût certainement été d'étudier le cycle évolutif de cette amibe, mais l'infection en était si avancée au moment où nous eûmes la culture, que toutes les amibes étaient plus ou moins parasitées et inhibées dans leur évolution, et après quatre jours elles avaient complètement disparu. Aussi bien pensons-nous qu'à défaut de la connaissance du cycle évolutif complet, difficile à exiger pour chaque opération taxonomique, les caractères tirés de la structure cytologique fine, fourniront toujours un bon critérium pour la spécification, surtout ceux tirés de la structure du noyau au repos et en division.

Colorée à l'hématoxyline ferrique, notre amibe dont la taille est de 25 à 40 μ montre un protoplasme sans inclusions, à fines granulations faiblement colorées et irrégulièrement distribuées. Le noyau est toujours unique, sphérique ou ovoïde. Son diamètre est de 8 à 12 μ en moyenne. Il présente une membrane très nette et un gros karyosome sphérique et compact, très colorable mesurant de 4 à 6 μ de diamètre. Accolés à la face interne de la membrane nucléaire ou incorporés à elle, se voient de nombreux granules chromatiques d'où partent des trabécules très peu teintés (linine?) qui les réunissent au karyosome. Des préparations colorées

à la méthode de Mann nous ont donné des figures identiques. Le karyosome seul est coloré en rose. La membrane nucléaire et les trabécules sont teintés en bleu, comme le cytoplasme. Pour les raisons que nous avons dites, nous n'avons pu observer le mode de division du noyau. La structure que nous venons de décrire diffère sensiblement de celle que Vahlkampf (1904) a attribuée à son *Amœba limax.* Ses figures obtenues par une technique ne différant pas de la nôtre ne montrent point de trabécules unissant le karyosome à la membrane. Celle-ci de plus paraît constituée par une série très régulière de très fins granules presque juxtaposés. Nous sommes d'ailleurs convaincus que notre *Amœba limax* n'est point identique à celle de Vahlkampf. Les dimensions étonnamment petites qu'il donne: 0,75 μ à 4 μ pour le corps entier, 0,3 μ à 0,5 μ pour le noyau sont bien au dessous de celles qu'indique Penard. Il se pourrait que Vahlkampf ait eu affaire à l'*Amœba gracilis* considérée par Penard comme une variété d'*Amœba limax.* Mais ce sont là de vagues conjectures.

Le parasite.

On ne voit du parasite dans les Amibes vivantes que des formes de sporulation. Ce sont des masses morulaires sphériques de très petites spores modérément réfringentes. Il se trouve généralement plusieurs de ces masses dans la même amibe plus ou moins comprimées réciproquement. Nous verrons qu'elles procèdent toujours d'infections isolées. Les plus grandes mesurent jusqu'à 20 μ, les plus petites qui ne contiennent que quelques spores n'ont que 4 à 5 μ. Il apparaît donc dès maintenant que la sporulation peut s'effectuer à un état de croissance quelconque. Les spores sont sphériques d'un diamètre uniforme de 1 μ 5. Un examen plus attentif montre à côté de ces formes en sporulation des corps peu distincts du cytoplasme de l'amibe, à peine plus sombres. Ce sont là les stades végétatifs du parasite.

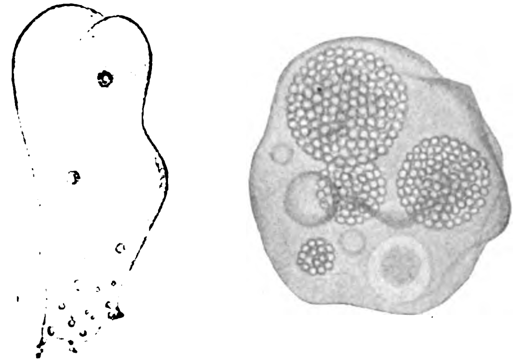


Fig. 1.
Stades végétatifs et sporanges de *Sphærita* dans *Amœba limax* Duj. Aspect *in vivo.*

Sur les préparations colorées, on remarque qu'à tous les stades de son évolution le parasite est entouré d'une mince membrane propre, invisible à l'état frais et dont on constate facilement la présence autour des individus les plus jeunes. Ceux-ci sont de petits corps sphériques mesurant environ 1 μ 5 et par conséquent de même taille que les spores elles-mêmes. Ils possèdent un très petit noyau punctiforme auquel on ne peut reconnaître de membrane distincte. Ce noyau présente la particularité très constante d'être excentrique. Il rappelle à cet égard le noyau de certaines *Bertramia* des Rotifères.

Ces jeunes individus augmentent de volume jusqu'à ce qu'ils atteignent la taille des sporanges qui, nous l'avons vu, est très variable. Mais si la multiplication nucléaire s'effectue parallèlement à la croissance, elle ne débute cependant pas en même temps qu'elle. Les tous jeunes individus sont encore à l'état uninucléé alors qu'ils ont déjà triplé de diamètre. Leur noyau a grossi dans les mêmes proportions, mais dans la suite, les divisions se succèderont si rapidement que les noyaux diminueront de taille en augmentant en nombre. Tous les états végétatifs sont donc plasmodiaux à partir d'un stade peu avancé, et la multiplication des noyaux paraît simultanée dans un même plasmode. Le mode de division est difficile à analyser à cause de la petitesse des figures. Nous avons représenté les aspects les plus nets de nos préparations. Ce sont de petits losanges chromatiques ayant l'apparence de mitoses, mais nous pensons qu'il s'agit plutôt là d'un allongement de la masse chromatique précédant la division.



Fig. 2. Jeunes stades de *Sphærita* dans *Amœba limax* DUJ.

Les noyaux au repos présentent deux calottes chromatiques polaires qui paraissent quelque fois complètement séparées et plus ou moins cunéiformes. Ce dernier aspect est la conséquence d'une fixation défectueuse.

Nous n'avons pas observé de fragmentation plasmotomique ou de bourgeonnement de ces plasmodes végétatifs. Tous les parasites proviennent du développement direct d'une spore. La sporulation est donc le seul mode de propagation. Les spores se forment simplement par condensation du protoplasme autour de chacun des

noyaux avec sécrétion d'une mince membrane d'enveloppe, qui retenant assez fortement le colorant, masque dès lors la structure du contenu. Dans quelques cas favorables nous avons cependant reconnu dans ces spores le noyau qui nous a paru là aussi excentrique. Ces spores sortent après la rupture de la membrane du sporange sans déhiscence spéciale. Elles sont nues, mais nous les avons toujours vues immobiles même plus d'une heure après leur mise en liberté. Nous nous gardons cependant d'affirmer et l'on en verra les raisons plus loin, qu'elles ne puissent dans certaines conditions pousser un flagelle et se mettre en mouvement.

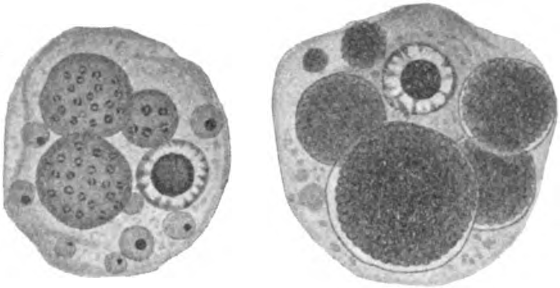


Fig. 3. Stades avancés et stades sporulés.

Nous ne savons pas comment se fait la réinfection par les spores, si immobiles, elles sont passivement englobées comme des particules nutritives, ou si mobiles, elles pénètrent par leurs propres mouvement dans les amibes. Il se peut fort bien que ces deux modes coexistent. Toujours est-il que la nécessité pour le parasite d'avoir des éléments reproducteurs mobiles n'est pas absolue, comme elle l'est dans le cas où celui-ci s'attaque à un hôte immobile et passif qu'il doit rechercher et pénétrer par ses propres moyens.

Nous ne pensons pas que les spores puissent se développer directement dans l'Amibe où elles ont pris naissance. Leur expulsion est toujours complète et extérieure, et le nombre des parasites à un même stade de développement n'est jamais assez élevé pour faire croire à ce développement direct des spores où à leur réingestion immédiate. En outre nous n'avons jamais constaté dans le cytoplasme des Amibes de membranes de sporanges vides.

L'existence en ce point du cycle, d'une phase de maturation conduisant, soit à des phénomènes sexuels soit à une évolution parthénogénétique, nous semble des plus probables. L'observation des stades parasites ne revèle aucun phénomène d'ordre gamogonique, tel par exemple qu'une autogamie soit à la base de l'évolution

végétative, soit avant a formation des spores. Ce que nous savons d'organismes voisins et de nombreux protistes parasites. rhizopodes ou flagellés nous autorise à penser que la gamogonie doit s'effectuer dans le milieu extérieur par la conjugaison de deux spores, ce qui impliquerait, cela va sans dire, la motilité de celles-ci. Dangeard (1889) observe que les zoospores d'un *Sphærita* parasite des Euglènes „sont parfois soudées les unes aux autres simulant une conjugaison de gamètes."

Doflein (1907 a et b) chez un parasite qui paraît très voisin des *Sphærita* a constaté d'une manière certaine la copulation des zoospores et le développement des zygotes en corps amœboïdes. Nous pensons que ce phénomène sexué est très général et qu'il doit exister aussi chez notre *Sphærita*.

Nous avons tenu à exposer nos observations sur le *Sphærita* de l'*Amœba limax* avec tous les détails possibles et sans souci de le comparer aux formes existantes, parce que celles-ci ne sont pas toutes également bien connues ni au point de vue cytologique ni au point de vue de leur évolution. Dangeard lui-même, on le verra a mis en doute l'homogénéité du genre *Sphærita* dans ses derniers travaux. Nous avons donc voulu donner une base concrète à la discussion qui va suivre.

Les formes affines: *Sphærita, Nucleophaga, Chytridiopsis.*

Dangeard (1886 a) a créé le genre *Sphærita* pour un parasite observé dans deux Rhizopodes: *Nuclearia simplex* et *Heterophrys dispersa* et aussi dans une Euglène indéterminée. Ces formes n'ont été étudiées qu'à l'état vivant, l'auteur les considère comme spécifiquement identiques, mais il convient dès maintenant de remarquer que la description qu'il donne de l'espèce *Sphærita endogena* et les figures qui l'accompagnent concernent exclusivement le *Sphærita* des deux Rhizopodes. Voici les points essentiels de cette description: „A maturité, le parasite offre à l'intérieur des Rhizopodes l'aspect d'une mûre: c'est le sporange qui est constitué par une centaine ou plus de corpuscules réfringents ou zoospores. Ces zoospores sont projetées au dehors par rupture du protoplasma du Rhizopode . . . leur grosseur est de 1,5 μ, leur mouvement est saccadé et très vif, quelquefois il consiste en une simple rotation sur place qui est due à la position de leur cil fortement recourbé. Il est difficile d'observer ces zoospores normales. Souvent en effet les Rhizopodes éclatent dans la préparation avant la maturité complète des sporanges et

les corpuscules de reproduction se dispersent sans montrer aucun mouvement. Nous avons vu plusieurs fois l'ingestion de ces corpuscules par d'autres *Nuclearia*. Il peut y avoir jusqu'à 6 de ces parasites et même davantage à l'intérieur d'un même Rhizopode mais ordinairement on n'en trouve qu'un ou deux. Au début ils sont constitués par de simples vésicules à protoplasma clair présentant localisés sur une partie de la surface quelques granules très fins.“ Cette description concorde point par point, les détails cytologiques en moins, avec notre description du parasite d'*Amœba limax*. DANGEARD on le voit, a eu aussi beaucoup de difficulté à voir les zoospores normales, et les raisons qu'il en donne nous paraissent parfaitement acceptables dans ce cas particulier. Nous croyons cependant devoir en donner qui nous semblent plus générales et qui découlent des observations de l'un de nous, CHATTON (1908), sur les zoospores d'une autre Chytridinée voisine des *Sphærita*, le *Blastulidium pædophtorum* CH. PÉREZ. La présence ou l'absence de flagelle, la mobilité ou l'immobilité des zoospores qui sont très sensibles aux conditions de milieu, dépendent essentiellement de ces conditions. Examinées entre lame et lamelle (sans compression) pendant un certain temps, elles sont toutes immobiles et sortent même à cet état des sporanges; examinées dans des conditions plus favorables pour elles, à l'air libre, elles restent mobiles ou le redeviennent. En 1889 DANGEARD étudie le parasite des Euglènes qu'il trouve dans *Phacus alata* KLEBS, dans un *Trachelomonas* et dans *Euglena sanguinea*. Il en décrit les kystes et montre que ceux-ci restent uninucléées jusqu'à un stade très avancé.

En 1894—95 c'est au point de vue cytologique qu'il étudie le *Sphærita* des Euglènes. La structure des stades uninucléés, leur développement, la sporulation, sont fondamentalement semblables à ce que nous avons vu chez *Amœba limax* mais ni dans les stades uninucléés, ni dans les zoospores, DANGEARD n'a observé la position excentrique du noyau; par contre il a observé très fréquemment qu'il était constitué par une membrane parfaitement nette et un karyosome central. Il y a donc là des caractères différentiels très nets.

Dans la même Euglène, il décrit d'autres formes qui ne peuvent être distinguées à l'état jeune de *Sphærita endogena* mais qui présentent une fragmentation plus précoce des stades plasmodiaux en masses secondaires où se formeront des zoospores identiques à celles de *S. endogena*. DANGEARD propose, au cas où ces parasites seraient distincts de *S. endogena* de les nommer *Pseudosphærita euglenæ*.

Au cours d'une étude sur une Acrasiée inférieure *Sappinia pedata* (1896—97) le même auteur trouve dans les myxamibes de cette espèce des parasites qui, à première vue, comme on peut s'en rendre compte par les figures qu'il en donne, ressemblent étrangement aux sporanges mûrs d'une *Sphærita.* Ce ne sont cependant que des colonies de *Micrococcus* qui résultent de la multiplication rapide des bactéries par division dans le protoplasme de l'amibe. A la suite de cette observation il dit: „Il y aura lieu d'appliquer aux germes endogènes que nous avons signalés autrefois chez les *Nuclearia* et les *Heterophrys* les nouvelles méthodes histologiques. Ce sont bien à coup sûr des parasites extra-nucléaires, mais peut-être arrivera-t-on à les différencier et à les séparer des *Sphærita endogena* des Euglènes et des Flagellés.“ Il y a deux choses cependant qui ne nous paraissent pas douteuses: 1° Le parasite des Rhizopodes est bien une Chytridinée comme en témoignent la formation des sporanges aux dépens des plasmodes végétatifs et l'existence des flagellispores. 2° C'est ce parasite des Rhizopodes qui doit porter le nom de *Sphærita endogena* Dangeard puisque c'est à lui que s'appliquaient la première description du genre et de l'espèce. Si comme nous le pensons aussi, le *Sphærita* des Euglènes en est distinct — la différence d'habitat est une forte présomption en faveur de cette distinction — il faudra créer pour lui une nouvelle espèce que nous proposerons de nommer dès maintenant *Sphærita dangeardi.* Quant au *Sphærita* d'*Amœba limax*, il est certainement différent à cause de ses caractères cytologiques, et en particulier de la situation excentrique du noyau de ses spores. du *Sphærita dangeardi.* Il faudra retrouver et réétudier le *Sphærita endogena* pour savoir si on peut lui rapporter le parasite d'*Amœba limax.*

Dangeard range les *Sphærita* dans la tribu des Olpidiées avec les genres *Olpidium* et *Olpidiopsis* dont l'un de nous a récemment rapproché aussi le genre *Blastulidium* Ch. Pérez. Ces trois genres comprennent des espèces parasites des Vers et des Crustacés et de leurs œufs, ainsi que des Protozoaires.

Tout au voisinage des *Sphærita*, Dangeard a placé aussi un autre parasite des Rhizopodes, le *Nucleophaga amœbae*[1]) qui n'en diffère guère que par son parasitisme intranucléaire.

On a signalé des *Nucleophaga* dans: *Amœba verrucosa* Ehrbg. (Dangeard 1895), *A. viridis* Leidy (Gruber 1904), *A. terricola* Greeff (Penard 1905). Tout récemment, Mercier 1907 signale un *Nucleo-*

[1]) Orthographié à tort par Doflein (1907 b) *Nucleophaga amœbaea.*

phaga dans les formes uninucléées d'*Amœba blattae* Bütschli, Elpatiewsky (1907) dans les noyaux d'*Arcella vulgaris* Ehrbg. et Doflein (1907 a et b) dans celui d'*Amœba vespertilio* Pénard.

Jusqu'à Doflein (1907 a et b) aucun auteur n'avait observé de zoospores chez *Nucleophaga*. Cependant Dangeard est persuadé de leur existence: „Nous avons, dit-il, désigné les spores qui sont contenues à l'intérieur du sporange sous le nom de zoospores, mais nous devons ajouter que nous ne les avons jamais vues en mouvement, la chose ne nous paraît pas douteuse cependant.“ Les observations de Doflein (1907 a et b) semblent venir tout à fait à l'appui de cette opinion de Dangeard, et de l'hypothèse formulée plus haut d'une conjugaison des zoospores. Doflein voit apparaître chez *Amœba vespertilio* Pénard d'une de ses cultures, entre le karyosome et la membrane, des masses protoplasmiques semées de nombreux granules chromatiques tandis que le karyosome dégénère et disparaît. Ces masses se résolvent en nombreux corpuscules uninucléés, zoospores à un flagelle animées d'un mouvement rapide. Ces flagellispores copulent deux à deux, la copula forme un kyste d'où il sort au bout de deux jours de petites Amibes qui ont l'allure d'*Amœba vespertilio*. Dans la note préliminaire (1907 a) où il fit d'abord connaître ces faits, Doflein les présente comme un processus normal de reproduction gamogonique de l'Amibe, mais dans son mémoire définitif (1907 b), éclairé par de nouvelles observations sur un parasite du cytoplasme de *Pyxidicula*, il abandonne complètement cette interprétation quelque séduisante qu'elle puisse paraître comme confirmation de la théorie de la dualité nucléaire de Schaudinn. Il considère dès lors que chez *Amœba vespertilio* il a eu affaire à deux parasites distincts: l'un très voisin du *Nucleophaga amœbae* de Dangeard, l'autre très voisin de l'*Allogromia* de Prandtl. Une partie des zoospores accouplées appartiendrait à cette dernière forme.

Le rapprochement avec *Nucleophaga* nous paraît très légitime, encore qu'il s'agisse ici d'un parasite siègeant non dans le karyosome comme tous les Nucleophages signalés jusqu'ici, mais entre celui-ci et la membrane nucléaire. Peut-être est-ce là un cas de parasitisme intermédiaire entre celui de *Sphærita* et celui de *Nucleophaga*. Nous n'avons pas saisi sur les figures de Doflein la distinction qu'il établit entre les stades rapportés à *Nucleophaga* et ceux rapportés à *Allogromia*. Quoiqu'il en soit ce dernier rapprochement ne nous semble pas justifié, ce qui apparaîtra lorsque nous aurons dit un peu plus loin ce qu'est cette forme intéressante pour nous à d'autres points de vue aussi.

Un parasite probablement très voisin des *Sphærita* et des *Nucleophaga* est *Chytridiopsis socius* Schneider (1884) hôte habituel des cellules intestinales de certains insectes (*Blaps*) et rencontré accidentellement dans la grégarine *Stylorhynchus longicollis* F. St. Schneider considère cet organisme comme une Chytridinée quoiqu'il n'ait jamais vu de zoospores et à cause de cela Caullery et Mesnil (1905) ainsi que Minchin (1905) ont pensé qu'on pourrait peut-être le rapprocher des Haplosporidies.

L'*Allogromia* de Prandtl.

L'*Allogromia*[1]) de Prandtl (1907) (qui n'a pas été déterminée spécifiquement) est un petit Gromidé libre à l'état végétatif, qui pour effectuer sa gamétogenèse, pénètre dans le cytoplasme de différents Protozoaires, *Arcella*, *Nuclearia*, *Paramæcium* et surtout *Amæba proteus.* Il s'y présente après un état chromidial sous forme de plasmodes à très petits noyaux qui se résolvent en un grand nombre de zoospores à deux flagelles, celles-ci s'accouplent deux à deux pour reprendre ensuite l'état amœboïde puis la structure de la forme végétative. Exceptionnellement la gamétogenèse s'effectue à l'état libre. Elpatiewsky (1908) a revu une *Allogromia* chez *Arcella vulgaris.* Rien dans les observations de ces auteurs n'autorise le rapprochement proposé par Doflein, et cela d'autant moins que *Allogromia* ne s'établit jamais dans le noyau.

Les stades plasmodiaux figurés par Prandtl ressemblent à s'y méprendre à des plasmodes de *Sphærita.* La production des flagellispores est bien faite pour rendre l'illusion plus complète encore. Aussi croyons nous devoir mettre en garde ici contre les confusions auxquelles peuvent conduire ces convergences. L'examen des jeunes stades parasites uninucléés fournira toujours un bon critérium de distinction, ne serait-ce que par leurs dimensions 18 à 20 μ pour *Allogromia*, 1,5 à 2 μ pour *Sphærita dangeardi.*

Les formes douteuses.

Outre les organismes précédents sur lesquels nous sommes relativement bien renseignés et dont l'autonomie peut être admise[2]), il

[1]) Genre créé par Rhumbler 1903. Arch. f. Protistenk. Bd. III.

[2]) De nombreux organismes ont été rencontrés vivant en parasites dans les Protistes, parmi lesquels beaucoup de Champignons inférieurs et particulièrement des Chytridinées. Nous ne mentionnons ici que ceux qui ont des rapports directs avec les *Sphærita.*

existe toute une série de formes signalées depuis longtemps par les auteurs qui étudièrent les Protistes et que l'on peut rapporter d'une manière plus ou moins problématique à l'un ou à l'autre des genres *Sphærita*, *Nucleophaga*, *Chytridiopsis* ou *Allogromia.* Ce sont ces formes que nous allons maintenant très brièvement passer en revue, et il semble qu'il y a à les rappeler à l'attention cet intérêt au point de vue de la protistologie générale, que plusieurs d'entre elles ont été considerées comme des stades de reproduction de leurs hôtes. Au sujet de ces dernières Klebs, en 1883, avait déjà émis l'idée que c'étaient là des formations parasitaires, et Dangeard l'a nettement établi pour les nombreuses formes qu'il a étudiées dans une série de mémoires publiés depuis 1886. [1])

Carter (1856) trouve chez certains Rhizopodes (*Euglypha alveolata* des spermatozoïdes, et l'année suivante il voit des ovules dans *Amœba verrucosa.* Dangeard (1889 et 1895) est persuadé de la nature parasitaire des premiers et a pu reconnaître sans doute possible dans les seconds son *Nucleophaga amœbae.* Il ne se prononce pas sur les corps plurinucléés décrits par le même auteur (1863) chez *Amœba princeps* = *A. proteus*, et que Prandtl considère comme stades d'une *Allogromia.*

Wallich (1863) voit aussi dans le cytoplasme d'*Amœba villosa* des cellules spermatiques „spermcells“ et Prandtl qui en 1907 ignore l'existence des *Sphærita* les rapporte encore à une *Allogromia*, ainsi que les formes décrites par Greef (1866) chez *Amœba terricola.* Les unes et les autres peuvent aussi bien être interprétées comme stades d'un *Sphærita.*

Les noyaux multiples des *Boderia* signalés par Wright (1867) ainsi que les germes mûriformes des Rhizopodes, décrits par Buck (1878) sont aussi d'après Dangeard des parasites.

F. Stein dans son grand ouvrage: die *Infusionstiere* paru de 1867 à 1883 décrit chez un certain nombre de Flagellates: *Euglena viridis* Ehr., *Trachelomonas hispida* Stein, *T. volvocina* Ehr., *Phacus pleuronectes* Nitsch, *Anisonema grande* Ehr., *Dinopyxis laevis* Stein, *Glenodinium pulvisculus* Ehr., *Heterocapsa triquetra* Ehr., des sphères germinatives (Keimkugeln et Keimsäcken) donnant naissance à des embryons généralement flagellés. Partout il figure des stades mûriformes et des stades jeunes uninucléés qui persisteraient à cet état

---

[1]) Nous ne citons de ces mémoires que ceux où il est question des *Sphærita* et des *Nucleophaga.* Voir pour les autres travaux de Dangeard sur les parasites des Protistes, la collection du „Botaniste“.

jusqu'à la sporulation (cf. Dangeard 1889). Dangeard (1889) considère toutes ces formes comme des *Sphærita.* Ajoutons que S. Kent (1882) a reproduit dans son *Manual of Infusoria* une partie des figures de Stein et ses interprétations.

Se gardant des erreurs de ses devanciers, Metchnikoff (1892) dans ses „Leçons sur la pathologie comparée de l'inflammation" signale chez une Amibe de grande taille (*A. proteus?*) une épidémie produite par un organisme „sous forme de cellules rondes, munies d'une mince membrane d'enveloppe et d'un noyau, et capable de se multiplier par division", qu'il désigne sous le nom de *Microsphæra.* Il est probable qu'il s'agit là comme le pensent Doflein et Prandtl d'une *Allogromia* mais il serait difficile de fonder sur la texte et les figures de Metchnikoff une revendication de priorité pour le nom de *Microsphæra.*

Si l'on en croit Prandtl, tout récemment encore, Calkins (1905) se serait mépris en interprétant comme stades de reproduction sexuée chez *Amœba proteus*, des figures qui semblent bien en effet se rapporter à une *Allogromia.*

Léger et Duboscq (1905) trouvent dans l'intestin de *Box boops*, teléostéen marin, „un Amibe voisin d'*Entamœba coli* Lösch.·souvent ravagé par des Microsphères qui amènent sa destruction".

Caullery et Mesnil (1905) signalent chez certaines grégarines du genre *Selenidium* (de *Spio martinensis* et de *Scolelepis fuliginosa*) „des inclusions parasitaires assez différentes des *Metchnikovella* décrites par nous chez d'autres grégarines, et qui à leur état probablement final (morula de cellules rondes), rappellent assez les *Bertramia*".[1])

Doflein a promis de nous renseigner prochaînement sur la nature des parasites dont il a annoncé la découverte (1907 b) chez *Pyxidicula, Arcella, Pelomyxa, Paramœcium.*

Un parasite qui serait voisin des *Chytridiopsis* a été tout récemment vu par Porter (1908) dans une Schizogrégarine: *Merogregarina amaroucii* Porter.

---

[1]) Si comme le font pressentir Brasil et Fantham (1907) les inclusions vues par Léger (1892) dans les *Platycystis* (*Selenidium*) des *Audouinia*, les prétendus stades de schizogonie du *Schizocystis sipunculi* de Dogiel (1907) le quel ne serait qu'un *Selenidium*, et les stades en morula des *Selenidium* vus par Caullery et Mesnil, appartiennent à un même organisme ou à des organismes voisins on ne pourrait guère songer à rapprocher ceux-ci des *Sphærita* ou des *Chytridiopsis.*

L'hôte et le parasite.

Il nous reste après cet exposé trop long que nécessitait la diversité des renseignements relatifs à ces parasites, à parler de leurs rapports avec leurs hôtes. C'est là un point de vue dont Dangeard a déjà fait ressortir tout l'intérêt et auquel nous nous serions particulièrement attachés si le matériel ne nous avait fait trop tôt défaut, à cause de la multiplication et de la dissémination rapides du *Sphærita*. Le pouvoir d'expansion des Chytridinées est d'ailleurs un fait bien connu.

Sphærita paraît nuire à l'*Amœba limax* plutôt par encombrement et par épuisement que par toxicité. Du moins aucune altération de structure ou d'affinités chromatiques ne vient-elle révéler une action chimique du parasite. Si l'on observe une amibe parasitée par cinq ou six plasmodes, par exemple, ce qui constitue un degré moyen d'infection, on constate que la motilité persiste, mais que l'allure est alourdie. Au lieu de la forme allongée habituelle, avec pseudopodes se formant à l'extrémité antérieure, l'amibe a une tendance à prendre la forme sphérique avec pseudopodes radiaires et il n'y a plus de direction prédominante dans la progression. La vacuole pulsatile continue à fonctionner très longtemps, mais son rythme se ralentit, et elle disparaît chez les individus très infestés.

Les apparences structurales fondamentales du noyau et du protoplasme sont bien conservées. Quand les parasites sont très nombreux et que l'amibe est sur le point de se désagréger il ne reste plus que quelques trabécules protoplasmiques entre les sporanges, mais ces trabécules montrent encore la structure normale finement alvéolaire. Le noyau aussi reste toujours intact et nous avons même constaté plusieurs fois sa présence parmi les parasites provenant d'amibes désagrégées.

Cette persistance post-mortem du noyau avec sa forme et sa structure s'observe très communément. Dans diverses cultures nous avons fréquemment remarqué des Amibes dont le protoplasme après la mort, avait été complètement digéré par des bactéries et dont le noyau apparaissait encore intact. Les nucléines sont d'ailleurs, on le sait, particulièrement résistantes aux actions biochimiques, et l'un des procédés de leur préparation consiste à soumettre les cellules à l'action de la pepsine qui digère seulement le protoplasme.

Mais longtemps avant que l'amibe soit arrivée à cet état de désagrégation complète, alors qu'elle présente encore son aspect

et sa motilité normales, le noyau a perdu la faculté de se diviser. Ceci apparaît comme une conséquence directe du défaut de nutrition, qui amène l'arrêt de la croissance et par là même l'arrêt de la division. C'est là le mécanisme élémentaire de la plupart des phénomènes d'arrêt de développement, de bourgeonnement ou de prolifération germinale dûs aux infections non toxiques et en particulier des phénomènes de castration parasitaire indirecte qui sont accompagnés plus ou moins de nanisme. Quand un organisme pluricellulaire, dont toutes les cellules sont solidaires, emploie une notable partie de ses nutriments à entretenir un parasite ou à lutter contre lui, la croissance et la division cellulaire sont inhibées dans toutes les cellules qui ne prennent pas directement part à la lutte, et le tissu germinal essentiellement constitué d'éléments en multiplication est le premier, avec les réserves, à marquer par son avortement ou sa disparition l'état de disette générale.

L'action du *Sphærita* sur l'*Amœba limax*, que nous venons d'étudier, est à peu de chose près identique celle à que Dangeard (1886 a et b) a constatée chez les *Nuclearia* et les *Heterophrys* parasitées par *Sphærita endogena*: „La présence du parasite ne gêne que médiocrement les Rhizopodes qui peuvent continuer à se diviser, si toutefois les germes endogènes sont à l'état de simples vésicules. Plus tard ils constituent un obstacle à la division.“ Dangeard a pu conserver pendant plusieurs mois les *Nuclearia* et les *Heterophrys* et leurs parasites dans ses élevages.

Il en est de même pour les Euglènes infectées par le *Sphærita dangeardi*. Mais ici le parasite provoque des altérations très sensibles, surtout lorsqu'il se trouve à l'état de kystes. Le noyau de l'Euglène dont le karyosome commence par disparaître, est transformé en une masse de chromatine condensée. Dans tous les cas, les chromatophores sont détruits et la culture toute entière prend une teinte jaunâtre. L'Euglène éclate sous l'action du parasite sporulé. Dangeard (1895) considère que sauf dans les cas où le noyau lui

[1]) Du peu de renseignements que Léger et Duboscq (1905) nous ont donné jusqu'ici sur les „microsphères“ qui amènent la destruction de l'Entamibe des *Box boops* il semble cependant résulter que leur nocivité vis à vis du Rhizopode est considérable. L'existence d'un microorganisme destructeur d'Amibes, acclimaté au milieu intestinal, fût ce chez un animal à sang froid mérite d'être retenue. Il n'est point absurde de penser que cet organisme ou tel autre dont des études ultérieures revèleront l'existence, pourrait être utilisé dans la lutte contre les Amibes pathogènes. Des essais dans ce sens seraient à tenter d'abord in vitro sur ces Amibes obtenues en cultures pures mixtes.

même, entre en dégénérescence, les Euglènes reviendraient à l'état normal s'il était possible de les débarasser de leurs parasites, ceux-ci n'ayant qu'une action purement mécanique, amenant la rupture de la membrane, mais n'agissant pas par épuisement. Il en donne comme preuve le fait que certaines Euglènes s'étant enkystées après avoir été infectées, ont continué à vivre à cet état, quoique le parasite ait sporulé. Mais il n'a pas suivi le sort de ces kystes. Il y aurait sur ce dernier point d'importantes observations à faire chez les Eugléniens aussi bien que chez les Rhizopodes. En résumé nous voyons que chez ces protistes, la présence des *Sphærita* est à peu près sans action sur le noyau.

Inversement Dangeard (1895) a montré que la présence des parasites nucléaires: (Nucléophages des Amibes, *Caryococcus hypertrophicus* des Euglènes) ne retentissait que très tardivement sur le cytoplasme, „alors que la substance nucléaire a déjà complètement disparu et que les éléments reproducteurs du parasite se sont répandus dans le cytoplasme . . .“ Il paraît donc exister chez les Rhizopodes et les Flagellates une certaine indépendance entre le noyau et le cytoplasme. Mais il faut se garder de généraliser des observations qui reposent sur un petit nombre de faits. Lorsqu'on tente une synthèse des documents relatifs à l'action des parasites endocellulaires sur la cellule hôte on se trouve en face d'une diversité de cas déconcertante. Souvent on voit le même parasite exercer une action différente sur deux cellules appartenant à des tissus différents du même hôte. Cependant il semble bien que l'on puisse dire d'une marière générale: les Sporozoaires endocellulaires: Grégarines, Coccidies, et certains Hémocytozoaires (Hémogrégarines) provoquent des altérations d'ordre chimique marquées par une hypertrophie souvent considérable de la cellule hôte et surtout de son noyau, suivie d'une atrophie avec dégénérescence pycnotique du noyau; les Néosporidies [Myxosporidies, [1]) Haplosporidies] et les Chytridiacées qui ont avec ces dernières de nombreux points de contact, semblent n'exercer sur les cellules que des actions chimiques très ménagées et se substituent à celle sans en altérer la structure autrement que par compression. Nous ne nous abusons d'ailleurs pas sur l'intérêt de ces généralisations car si les images d'altérations structurales se laissent ranger en deux

[1]) On ne connaît guère de Myxosporidies à proprement parler intracellulaires, en dehors du *Nosema bombycis* parasite dans les cellules des glandes séricigènes du ver à soie, et de la Microsporidie *Pleistophora intestinalis* Chatton 1907 qui vit dans les cellules intestinales des Daphnies sans y provoquer, de réaction manifeste.

catégories, qui correspondent assez bien à deux groupes de parasites, nous ne savons pas si elles correspondent à deux groupes de phénomènes comparables. Seule la connaissance des réactions biochimiques entre la cellule et son parasite, à laquelle il faudrait arriver dans chaque cas particulier, pourra amener à une conception d'ensemble vraiment satisfaisante de ces phénomènes. Le matériel que nous avions à notre disposition et dont, en cette occasion, nous n'avons pas pu tirer bon parti, nous paraît être un matériel de choix pour une étude de ce genre, à cause de la possibilité de manier *in vitro*, en cultures pures mixtes, l'Amibe et son parasite, et de les obtenir en quantités notables.

Paris, 14 mars 1909.

Post-scriptum.

Le lendemain du jour de l'envoi de notre manuscrit à la direction de ces Archives, paraissait une note de LÉGER et DUBOSCQ (1909 a) où ces auteurs font connaître l'existence d'une microsporidie du genre *Nosema*, *N. frenzelinæ* parasite de *Frenzelina conformis*, grégarine de l'intestin des crabes. Ce nouveau cas de parasitisme intracellulaire d'une myxosporidie est des plus intéressants au point de vue des réactions de l'hôte et du parasite. La microsporidie évolue dans le cytoplasme sans altérer le noyau, et la grégarine continue à croître, elle s'accouple et s'enkyste mais ne forme point de gamètes, ce que les auteurs interprêtent comme un cas de castration parasitaire chez un protozoaire. Nos résultats et l'interprétation que nous en avons donnée concordent donc avec ceux de LÉGER et DUBOSCQ (v. p. 13, p. 14 et la note du bas de la page 14).

Nous devons aussi signaler ici les documents nouveaux apportés par les mêmes auteurs (1909 b) à l'histoire des *Chytridiopsis*. Ils ont découvert chez *C. socius* A. SCH., évoluant dans l'épithélium intestinal du *Blaps mucronata* LATR. un cycle schizogonique et un cycle gamogonique avec une fécondation qu'ils pensent être anisogamique. Les schizozoïtes sont amœboïdes et les spores durables sont enfermées sous un kyste à paroi résistante d'origine cellulaire. A cause de ces faits, surtout du premier, LÉGER et DUBOSCQ ne pensent pas devoir rapprocher les *Chytridiopsis* des *Sphaerita*, et ils les considèrent comme devant rentrer dans les *Monadinea Zoosporea* de CIENKOWSKI-ZOPF., sans toutefois écarter l'idée d'une parenté avec les microsporidies.

Bibliographie.

1907 Brasil, L. et Fantham, H. B.: Sur l'existence chez les sipunculides de schizogrégarines appartenant à la famille des Selenidiidae. C. R. Acad. des Sc. Paris CXLIV, p. 518—521.

1878 Buck, E.: Einige Rhizopodenstudien. Zeitschr. f. wiss. Zool. XXX, p. 1—45.

1882 Bütschli, O.: Protozoa. in: Bronn's Klassen und Ordnungen des Tierreichs.

1905 Calkins, G.: Evidences of a sexual cycle in the life history of *Amoeba proteus*. Arch. f. Protistenk. V, p. 1—16 pl. I—III.

1856 Carter, H. J.: Notes on the Freshwater Infusoria of the Island of Bombay. Ann. mag. nat. hist. (2) XVIII, p. 115—121.

1857 —: Additional notes on the Freshwater Infusoria in the Island of Bombay. Ann. mag. nat. hist. (2) XX, p. 37.

1863 —: On Amœba princeps and its reproductive cells, compared with *Aethalium*, *Pythium*, *Mucor* and *Achlya*. Ann. and mag. nat. hist. XII.

1905 Caullery, M. et Mesnil, F.: Recherches sur les Haplosporidies. Arch. zool. expér. et gén. (4) IV, p. 101—180 pl. XI—XIII.

1908 Chatton, E.: Sur la reproduction et les affinités du *Blastulidium poedophtorum* C. Pérez. C. R. Soc. biol. Paris LXIV, p. 34—36.

1886 Dangeard, P. A.: Sur un nouveau genre de Chytridiacées parasite des Rhizopodes et des Flagellates. Bull. soc. bot. France XXXIII, p. 240—241.

1886 —: Recherches sur les organismes inférieurs. Ann. sc. nat. Bot. (7) IV, p. 241—341 pl. 11—14.

1889 —: Mémoires sur les Chytridinées. Le Botaniste I, p. 39—74 pl. II—III.

1895 —: Mémoire sur les parasites du noyau et du protoplasma. Le Botaniste IV, p. 199—249.

1897 —: Contribution à l'étude des Acrasiées (*Sappinia pedata* n. gen., n. sp.). Le Bot. V, p. 1—20.

1901 —: Le caryophysème des Eugléniens. Le Bot. VIII, p. 358—360.

1907a Doflein, F.: Fortpflanzungserscheinungen bei Amöben und verwandten Organismen. Sitz.-Ber. d. Ges. f. Morph. u. Physiol. München p. 1—9.

1907b —: Studien zur Naturgeschichte der Protozoen. V. Amöbenstudien. I. Teil. Arch. f. Protistenk., Suppl. I, p. 250—293 pl. XVII—XIX.

1907 Elpatiewsky, W.: Zur Fortpflanzung von *Arcella vulgaris* Ehrbg. Arch. f. Protistenk. X, p. 441—466 pl. XXI—XXII.

1866 Greef, R.: Über einige in der Erde lebende Amöben und andere Rhizopoden. Arch. f. mikr. Anat. II, p. 299—332 pl. XVII—XVIII.

1906 Gruber: Über *Amoeba viridis* Leidy. Zool. Jahrb. Suppl. VII, p. 67

1883 Klebs: Über die Organisation einiger Flagellatengruppen. Untersuch. a. d. bot. Inst. zu Tübingen I.

1892 Léger, L.: Recherches sur les Grégarines. Tablettes zoologiques II, Thèse de Paris.

1878—1883 Stein, Fr.: Die Infusionstiere. III.

1902 Léger, L. et Duboscq, O.: Les grégarines et l'épithélium intestinal des Trachéates. Arch. de parasit. VI, p. 377—673 pl. II—VI.

1904 —: Notes sur les Infusoires endoparasites. II. *Anoplophrya brasili*. III. *Opalina saturnalis*. Arch. zool. exp. et gén. (4) II, p. 337—356 pl. XIV.

1909a Léger, L. et Duboscq, O.: Sur une Microsporidie parasite d'une Grégarine. C. r. Ac. de sc. Paris CXLVIII p. 733—735.

1909b Sur les *Chytridiopsis* et leur évolution. Arch. zool. exp. et gén. V, I. N. et R. p. 9—13.

1907 Mercier, L.: Un parasite du noyau d'*Amoeba blattae* Bütschli. C. r. Soc. biol. Paris LXII, p. 1132—1134.

1892 Metschnikoff, E.: Leçons sur la pathologie comparée de l'inflammation. Paris, Masson.

1902 Pénard, E.: Les Rhizopodes d'eau douce du bassin du Léman Genève.

1905 —: Observations sur les Amibes à pellicule. Arch. f. Protistenk. VI, p. 175—207.

1908 Porter, A.: A new schizogregarine, *Merogregarina amaroucii* n. g., n. sp., parasitic in the alimentary tract of the composite ascidian *Amaroucium* sp. Note prél. (Arch. zool. exp. et gén. (4) IX, N. et R., p. XLIV—XLVIII.

1907 Prandtl, H.: Der Entwicklungskreis von *Allogromia* sp. Arch. f. Protistenk. IX, p. 1—22 pl. 1.

1904 Rhumbler, L.: Zusammenstellung der recenten Reticulosa. Arch. f. Protistenk. III, p. 181—294.

1884 Schneider, A.: Sur le développement du *Stylorhynchus longicollis*. Arch. zool. exp. et gén. (2) II.

1905 Vahlkampf, E.: Beiträge zur Biologie und Entwicklungsgeschichte von *Amoeba limax* einschließlich der Züchtung auf künstlichen Nährboden. Arch. f. Protistenk. V, p. 167—221 pl. 6.

1863 Wallich: Further observations on an undescribed indigenous *Amoeba* with notices on remarkable forms of *Actinophrys* and *Difflugia*. Ann. and mag. of nat. hist. XI.

1867 Wright, T. S.: Observation on British Zoophytes and Protozoa. Journ. of anat. and physiol. (1) p. 332.

Etudes[1]) sur la sexualité chez les Grégarines.

Par
L. Léger et O. Duboscq.

(Avec Planches I—V et 33 figures dans le texte.)

Table des matières.

[1]) Ce mémoire avait été adressé en juillet 1908 au concours de l'Académie des Sciences et Lettres de Belgique, qui nous a fait l'honneur de le couronner. Nous n'en avons pas modifié la rédaction primitive et le lecteur ne s'étonnera pas de la forme impersonnelle que nous avons dû adopter pour citer ou apprécier nos travaux précédents.

I. Etat actuel de nos connaissances sur la sexualité chez les Grégarines.

Dans les traités récents (Minchin 1903, Lang 1901) la classe des Sporozoaires est divisée en 2 sous-classes: les Télosporidies Schaudinn (Ectosporés de Metchnikoff) comprenant les Grégarines, les Coccidies et les Hémosporidies; les Néosporidies Schaudinn (Endosporés de Metchnikoff) comprenant les Myxosporidies, Sarcosporidies et Haplosporidies auxquelles on ajoute, comme ordre aberrant, les Exosporidies.

Tous les auteurs sont d'accord pour reconnaître les affinités étroites des Grégarines et des Coccidies qui forment un ensemble homogène. Mais de cet ensemble qui constitue les Télosporidies, il faut, à notre avis, distraire les Hémosporidies ainsi que le propose Hartmann (1907). Leur parenté avec les Flagellés a été démontrée par Schaudinn et il n'y a pas lieu de conserver ces êtres sans spores parmi les Sporozoaires quand, par définition, les Sporozoaires terminent leur évolution par la production de spores durables.

Les Néosporidies sont acceptées par la plupart des zoologistes (voir encore Hartmann 1907). Pour nous cette classe ou sous-classe n'a aucune signification, car elle contient au moins 3 séries d'êtres sans affinités réelles entre eux.

Les Myxosporidies s. lat. ou Cnidosporidies (Doflein) forment un groupe indiscutablement homogène avec 3 grandes tribus: les Actinomyxidies, les Eumyxosporidies (= Myxosporidies s. str.) et les Microsporidies. Mais ce groupe reste très isolé et nous sommes surpris que Keysselitz (1908) trouve à ces êtres une parenté avec les Télosporidies.

La position systématique des Sarcosporidies reste incertaine, mais ce qui n'est pas douteux, c'est qu'elles n'ont rien à voir avec les Myxosporidies. Si on a continué de les en rapprocher (voir Minchin 1903) c'est qu'on a cru à la présence d'une capsule polaire dans les spores d'après les observations de Pfeiffer (1893), Van Ecke (1892), confirmées par Laveran et Mesnil (1899), lesquelles sont erronées ainsi que l'a montré Perrier (1907). Il est probable qu'avec la *Joyeuxella* de Brasil, les Sarcosporidies rentreront dans les Télosporidies.

Les Haplosporidies de Caullery et Mesnil représentent un groupement commode, mais certainement provisoire. Les diverses familles qui le composent n'ont de commun que des caractères qui

se retrouvent chez divers groupes de végétaux inférieurs (Myxomycètes, Chytridinées, Protascomycètes) avec une réduction et une simplification du thalle déterminée par le parasitisme.

Quant aux Exosporidies, elles sont encore plus sûrement des Protophytes. CHATTON (1906) qui en a fait une étude récente les considère comme des Champignons à placer „au même niveau que les Myxomycètes et les Chytridinées". Les êtres les plus voisins des *Amoebidium* sont certainement les *Eccrina* et *Enterobryus* de LEIDY, ainsi que les *Eccrinopsis*, *Eccrinella*, *Arundinula* que LÉGER et DUBOSCQ (1905) ont réunis sous le nom d'Eccrinides en les plaçant parmi les Protophytes. Comme le pense CHATTON (1906), c'est plutôt parmi les Champignons que parmi les Algues qu'il faudra classer tous ces parasites.

Si nous considérons chez ces divers Sporozoaires les phénomènes de la reproduction, nous verrons qu'ils s'y déroulent de façon fort différente. Et pour ce qui est des phénomènes de la sexualité, il n'y a aucune comparaison à établir entre les Télosporidies et les séries réunies sous le nom de Néosporidies.

Nous nous bornerons donc dans ce mémoire à l'étude de la sexualité chez les Télosporidies et même seulement chez les Grégarines. C'est qu'en effet le groupe des Coccidies est de beaucoup le mieux étudié et le mieux connu. On sait maintenant depuis les travaux de SCHAUDINN, SIEDLECKI, LÉGER, LAVERAN et MESNIL et de beaucoup d'autres, qu'une Coccidie provient toujours d'un sporozoïte issu d'un sporocyste durable formé lui-même dans un ookyste résultant d'une copula. Chez ces êtres, les phénomènes de la sexualité ont deux modalités qui sont représentées par deux types différents, le type *Coccidium*, le plus commun, et le type *Adelea*. Dans le type *Coccidium*, l'attraction n'existe pas entre gamontes; et elle n'existe qu'entre gamètes. Par conséquent, il n'y a pas d'accouplement, mais seulement fécondation. Les microgamètes formés par les microgamétocytes, peuvent atteindre l'élément femelle éloigné, grâce à leur mobilité due surtout à deux flagelles. Ce processus se retrouve dans la majorité des Coccidies (*Coccidium*, *Légerella*, *Barrouxia*, *Cyclospora*, *Diplospora*, etc.).

Dans le type *Adelea*, l'attraction sexuelle s'exerce de bonne heure entre gamontes, ou plutôt entre gamonte mâle et macrogamète, de sorte que les microgamètes formés longtemps après cet accouplement se trouvent de suite en contact avec l'élément femelle et n'ont plus besoin de flagelles. Ces microgamètes sont en effet virguliformes, formés presque uniquement de substance nucléaire; ils n'ont

aucun appendice mobile visible. Mais là encore l'hétérogamie est très prononcée.

Dans l'un et l'autre type, on n'a pas découvert de véritable réduction chromatique (réduction du nombre de chromosomes à la suite de mitoses), mais seulement un rejet de matière chromatique, d'aspect plutôt nucléolaire, rejet désigné sous le nom d'épuration nucléaire.

Rappelons enfin que le cycle évolutif d'une Coccidie semble toujours comporter une schizogonie.

Aussi bien dans leur morphologie que dans leur développement et leur évolution sexuelle, les Grégarines présentent des variations beaucoup plus grandes que les Coccidies. Ainsi un *Ophryocystis*, un *Schizocystis*, un *Selenidium*, un *Pterocephalus* montrent des formes et des types de développement très divers.

La sexualité n'apparaitrait-elle pas aussi selon des modalités aussi variées dans les diverses familles de Grégarines?

Depuis longtemps on connaissait un phénomène général: l'accolement de deux sporadins prélude de l'enkystement. Stein (1848) n'hésitait pas à considérer les enkystements doubles comme le début d'une conjugaison, qui devait être suivie de la fusion des deux individus. Van Beneden (1871) au contraire interprétait les kystes à deux individus de la Grégarine du Homard comme produits par la division d'une Grégarine enkystée solitairement. Mais Giard (1872) et Schneider (1875) ayant suivi pas à pas l'enkystement de deux individus préalablement accouplés, on revint à l'opinion de Stein. Défendue par Bütschli (1882) elle fut longtemps classique et parut confirmée par les travaux de Roboz (1886) et de Wolters (1891) qui y ajoutèrent une prétendue réduction chromatique.

Cependant Schneider (1875), observateur sagace et qui connaissait les enkystements solitaires, se refusa toujours à croire à une conjugaison véritable et ne voulut voir dans l'enkystement double qu'un moyen de protection en commun sans rapport avec les phénomènes sexuels. Henneguy d'abord (1889), puis Cuénot (1899), montrèrent que Schneider avait raison de nier la fusion des Grégarines. Les deux Grégarines d'un kyste poursuivent d'une façon indépendante leur évolution jusqu'à la formation des sporoblastes. Si l'accolement des Grégarines a une signification, ce n'est qu'en tant „qu'étape sur le chemin de la fécondation“ (Cuénot).

Tandis que Caullery et Mesnil (1900) préféraient voir „le souvenir ancestral d'une véritable conjugaison“ dans cet accouplement des Grégarines, Siedlecki (1899) découvrit enfin sa significa-

tion. Chaque Grégarine est un gamonte et les gamètes nombreux produits par les gamontes copulent deux à deux pour s'unir en copula. SIEDLECKI pensa que les gamètes devaient provenir d'individus différents; mais il ne put l'établir d'une façon certaine. Il les vit semblables et conclut à une isogamie qu'il opposa à l'hétérogamie des Coccidies.

LÉGER (1901) confirma d'abord dans ce qu'elle a d'essentiel la découverte de SIEDLECKI, puis montra que chez *Stylorhynchus*, chaque individu du kyste produit des gamètes différents, l'un donnant des gamètes males, mobiles, munis d'un rostre et d'un flagelle, l'autre des gamètes femelles, immobiles et sphériques. Il y a donc anisogamie et l'on doit distinguer une Grégarine mâle et une Grégarine femelle.

Tandis que certains auteurs, CUÉNOT (1901), BERNDT (1902), CECCONI (1902), PROWAZEK (1902), PAEHLER (1904), SCHNITZLER (1905), croiront retrouver l'isogamie chez les Monocystidées et les Polycystidées, d'autres dans les mêmes groupes, LÉGER et DUBOSCQ (1902—1903 a), BRASIL (1905 a—c), NUSBAUM (1903), SCHELLACK (1907 a et 1907 b) décrivent une anisogamie plus ou moins prononcée.

Telles sont les grandes lignes de l'histoire de la sexualité chez les Grégarines, mais les questions qui se posent ne concernent pas seulement l'isogamie ou l'anisogamie. L'accouplement des gamontes et le moment de la différenciation sexuelle, les enkystements solitaires et leurs conséquences, la présence ou l'absence de la schizogonie compliquent ce problème de la sexualité et pour le comprendre il est nécessaire d'envisager successivement l'état de nos connaissances à ce point de vue dans chaque groupe de Grégarines.

Les Grégarines se divisent en Schizogrégarines comportant une multiplication schizogonique et en Eugrégarines qui en sont dépourvues.

Sexualité chez les Schizogrégarines.

En complétant la classification que LÉGER et DUBOSCQ ont proposée dans un récent travail (1908), nous diviserons les Schizogrégarines de la façon suivante:

Monosporées	Ophryocystidées
Polysporées	Schizocystidées Selenididées Aggregatidées Porosporidées

On voit que notre classification actuelle compte une famille de plus, les Porosporidées, qui seront étudiées dans ce travail.

Monosporées.

Chez les Monosporées, la sexualité est aujourd'hui connue. Schneider (1884—1885), en faisant connaître l'*Ophryocystis*, signalait déjà l'existence d'une multiplication nucléaire, paraissant bien avoir la signification d'une réduction chromatique, et la fusion de deux des noyaux réduits pour devenir le synkaryon de l'unique sporoblaste. Léger (1900), après avoir établi que l'*Ophryocystis* est morphologiquement une Grégarine, a reconnu la signification des phénomènes établis par Schneider. Les individus qui s'accouplent deux à deux sont en réalité des gamontes donnant chacun, après deux divisions nucléaires, un seul gamète. Les deux gamètes du couple s'unissent pour former une copula qui devient l'unique sporocyste grégarinien de cette Schizogrégarine.

Ainsi donc, chez les Monosporées, les gamontes sont monogamétiques et la conjugaison est isogame.

Polysporées.

1ère famille. — Schizocystidées. En complétant la brève description de *Schizocystis* donnée par Léger (1900), nous dirons que chez *Schizocystis*, la sexualité est précédée d'un accouplement de gamontes semblables qui se réunissent ensuite en un kyste sphérique. Chacun des gamontes enkystés donne, à la suite de mitoses rappelant celles des *Monocystis*, des gamètes de forme différente, les uns globuleux, à noyau latéral, les autres étirés, à noyau antérieur et pourvus d'un rostre. Après union binaire de ces gamètes se constituent des copula donnant des sporocystes biconiques du type Actinocéphalide.

Notons que, dans cette espèce, le cytoplasme des gamontes a une affinité très grande pour les couleurs acides, tandis que le plasma des schizontes multiplicatifs est nettement basophile. Il en est de même du reste chez *Ophryocystis*.

Donc, chez les Schizocystidées, les gamontes semblables sont polygamétiques et il y a anisogamie.

2ème famille. — Selenididées. Chez les Selenididées, le cycle est loin d'avoir été suivi d'une façon complète. On ne connait de la sexualité que le commencement, l'accouplement des gamontes, déjà

vu par Koelliker et Mingazzini, et la fin du cycle, c'est-à-dire la formation de spores à quatre sporozoïtes signalée par Caullery et Mesnil (1899).

3ème famille. — Aggregatidées. La famille des Aggregatidées a été établie par Labbé (1899) pour les *Aggregata* de Frenzel. Or, depuis les recherches de Léger et Duboscq (1906a—b, 1907, 1908), on sait que les *Aggregata*, tels que les concevait Frenzel, correspondent en réalité à deux genres distincts de Grégarines. L'une, la forme polycystidée intestinale, est en réalité une Eugrégarine que ces auteurs ont appelée *Frenzelina* et dont nous nous occuperons plus loin, l'autre, représentée seulement chez les Crustacés par des kystes gymnosporés coelomiques est une Schizogrégarine dont la sporogonie s'effectue chez les Céphalopodes (*Klossia, Benedenia, Eucoccidium*). Les phénomènes sexuels, qui se passent chez *Sepia* ou chez *Octopus*, ont été méconnus par les anciens auteurs. Schneider (1875), Labbé (1899) considéraient les kystes à microgamètes, comme des kystes renfermant des éléments abortifs et c'est à Siedlecki (1898) qu'on doit d'avoir établi l'existence de la sexualité en prouvant que ces éléments soi-disant dégénérés sont bien des microgamètes.

D'après Siedlecki qui considère le parasite des Céphalopodes comme une Coccidie, ces microgamètes sont destinés à féconder des macrogamètes sphériques de grande taille qui deviendront les ookystes polysporocystés. Moroff (1906), par contre, soulève une interprétation toute différente. D'après lui, les microgamètes sont destinés à féconder non point la cellule mère du kyste, mais bien chacun des sporoblastes formés ultérieurement dans celui-ci; et comme chacun de ces sporoblastes donnera un sporocyste définitif, on voit que, d'après les vues de Moroff, chaque spore dérive d'une copula, ce qui est le caractère essentiel du groupe des Grégarines.

Nous nous rangeons d'autant plus volontiers à l'interprétation de Moroff que les recherches de Léger et Duboscq (1908) sur la schizogonie ont montré que les caractères cytologiques des *Aggregata* étaient plutôt grégariniens (grains de paramylon pareils à ceux des Eugrégarines, centrosome bien distinct). Quoi qu'il en soit, les gamètes des *Aggregata* sont très différents et ici l'anisogamie est indiscutable.

4ème famille. — Porosporidées. Les kystes à deux conjugués sont connus chez *Porospora* depuis les recherches de E. van Beneden (1871) qui les interprétait comme le produit de la division d'une grégarine enkystée solitairement. Léger (1892) a observé un accouplement de gamontes chez une grégarine du Homard qu'il rapporte à *Porospora*. Nos recherches montreront que *Porospora* s'enkyste presque

toujours solitairement ainsi que l'ont noté Léger et Duboscq (1906). Il existe néanmoins des kystes doubles comme l'a bien vu van Beneden. Chose étrange, ils se comportent comme les kystes solitaires et les uns et les autres représentent une schizogonie qui donne les gymnospores. Par conséquent, *Porospora* est une Schizogrégarine dont la sporogonie n'est pas connue.

Sexualité chez les Eugrégarines.

Les Eugrégarines sont les Grégarines sans schizogonie.

Léger avait divisé autrefois (1892) les Grégarines en Gymnosporées et en Angiosporées. Les Gymnosporées d'après Labbé (1899) renfermaient les *Porospora* et les *Aggregata* tels que les comprenait Frenzel. Comme nous venons de le dire, *Porospora* trouve sa place parmi les Schizogrégarines. Les *Aggregata* sensu stricto (= *Benedenia, Eucoccidium*) se rangent aussi dans les Schizogrégarines, tandis que les *Frenzelina* (*Aggregata* Frenzel pr. p.) passent dans les Angiosporées. Les Gymnosporées doivent ainsi disparaître de la systématique, et nous n'avons plus à nous occuper que des Angiosporées. ce terme étant d'ailleurs superflu puisque toute Grégarine a des spores durables à paroi résistante.

Monocystidées.

Les Eugrégarines, débarassées des Gymnosporées, sont distinguées en Monocystidées et Polycystidées. C'est là une division simple, mais qui est loin de correspondre à une classification naturelle. Et en effet, les *Monocystis* coelomiques des Annélides semblent n'avoir qu'une parenté éloignée avec les formes monocystidées coelomiques des Insectes, comme les *Diplocystis* des Grillons ou des Blattes. A en juger d'après l'évolution générale et la forme des spores, les Monocystidées coelomiques d'Annélides dérivent de formes intestinales des mêmes hôtes, tandis que celles-ci sont éloignées des Grégarines intestinales des Insectes qui, pareillement, ont fourni les Grégarines coelomiques de ces hôtes. Par exemple, il n'est guère douteux que les *Syncystis* de la Nèpe ne dérivent des Acanthosporides, dont les spores sont pareillement épineuses et qui sont si communs dans l'intestin des Insectes carnassiers; ou encore que les Grégarines coelomiques des Phryganes avec leurs spores biconiques ne soient les descendants des Actinocéphalides (*Pileocephalus*) qu'on rencontre dans l'intestin des mêmes animaux. Mais notre but actuel n'est pas

d'entreprendre cette révision, d'ailleurs prématurée, de la systématique. Laissant provisoirement au terme de „Monocystidées" toute son ampleur, nous envisagerons les différents types de ce groupe chez lesquels les phénomènes sexuels ont été étudiés.

Le travail fondamental est, comme on le sait, le mémoire de SIEDLECKI (1899) sur *Monocystis ascidiae.* Là, pour la première fois, sont distingués les véritables gamètes des Grégarines et le phénomène de la fécondation est définitivement établi. SIEDLECKI nota, entre autres faits importants, la différence de colorabilité des Grégarines conjuguées, la formation d'un premier fuseau très petit par rapport au noyau primitif et l'épuration nucléaire qui en résulte — le seul phénomène qui puisse rappeler chez *Monocystis ascidiae* la réduction chromatique — enfin la formation des gamètes, leur „danse", et leur conjugaison. Par une critique très serrée, BRASIL (1904) montre très nettement qu'on peut déduire du travail de SIEDLECKI la présence de gamètes flagellés chez le *Monocystis ascidiae* et par conséquent l'existence de l'anisogamie. Et, en effet, SIEDLECKI a observé la „danse des sporoblastes" dont les mouvements lui ont bien paru ceux d'éléments flagellés. Seulement, à cause même de la rapidité de ces mouvements, gêné aussi par la forte réfringence et l'épaisseur de la couche de ces éléments, il dut avouer qu'il n'avait pu voir de flagelles ni sur le vivant, ni sur les préparations fixées. Ce défaut d'observation l'entraîna à conclure à la similitude des gamètes, et il opposa l'isogamie des Grégarines à l'hétérogamie des Coccidies.

L'isogamie des Grégarines monocystidées est soutenue ensuite par CUÉNOT (1901) CECCONI (1902) et PROWAZEK (1902) pour les *Monocystis* du Lombric, par WOODCOCK (1906) pour les *Cystobia* des Holothuries. Mais les résultats de ces auteurs sont critiquables. BRASIL (1905b—c), démontre la présence de l'anisogamie chez les *Monocystis* de *Lumbricus herculeus.* Les gamètes mâle et femelle y sont de même forme; mais le gamète mâle, plus petit, a un noyau hyperchromatique, tandis que le noyau des gamètes femelles est plus volumineux avec une chromatine de qualité différente. BRASIL (1905a) avait déjà démontré l'anisogamie chez d'autres Monocystidées, *Gonospora, Urospora,* et il est à noter que ces Grégarines sont très proches parentes des *Cystobia.* Quoique nous ne fassions pas l'étude des Monocystidées, nous signalerons que chez le *Stomatophora coronata* HESSE de *Pherctima* nous avons observé une anisogamie certaine, encore plus marquée que celle des *Monocystis* observée par BRASIL; et, là aussi, nous avons noté une différence dans la colorabilité et la

grandeur des alvéoles du cytoplasme en concordance avec certaines observations de BRASIL (1905 c). Nous sommes donc en droit de conclure que l'anisogamie souvent peu visible est cependant très générale chez les Monocystidées.

A cette question de la sexualité se trouve liée celle des enkystements solitaires chez les *Monocystis*. SCHELLACK (1908), qui l'a examinée dans une note récente, montre que l'enkystement solitaire chez les Monocystidées n'est pas un fait douteux, qu'il est même commun, et la seule chose incertaine, c'est sa signification. Doit-on penser, avec SCHNEIDER et LÉGER dans leurs anciens travaux, avec CAULLERY et MESNIL (1898, 1899, 1900) et HENNEGUY (1908) dans leurs recherches plus récentes, que ces kystes solitaires peuvent donner des spores? Ou bien faut-il plutôt croire que les Grégarines enkystées solitairement dégénèrent (CUÉNOT), à moins qu'elles ne représentent des kystes schizogoniques donnant des sporozoïtes (BRASIL) ou même qu'elles forment isolément des gamètes d'un même sexe destinés à s'unir avec les gamètes d'un kyste voisin (CECCONI)? Rien ne nous permet de nous prononcer dans un sens ou dans l'autre, et seule l'interprétation de CECCONI parait invraisemblable pour les *Monocystis*, malgré ce que nous savons de l'évolution des *Aggregata*.

Les Monocystidées ont fourni des documents importants sur les premiers débuts de l'évolution du kyste. Sans rappeler les observations des anciens auteurs et en négligeant les interprétations de WOLTERS qui voulait voir une réduction chromatique dans la mitose du premier noyau, on sait aujourd'hui que chez les Monocystidées la première division du noyau présente des modalités variées. Mentionnons d'abord les observations de PORTER (1897) chez *Monocystis Clymenellae* et de CAULLERY et MESNIL (1900) chez un *Selenidium*. Ces auteurs décrivent un chromidium karyogène ou une division amitotique multiple au début de la sporulation, mais, à notre sens, leur interprétation reste critiquable.

Depuis ROBOZ et HENNEGUY, on sait que la mitose bipolaire est la règle pour la division du premier noyau. Son aspect est néanmoins différent selon les cas. Tantôt la matière nucléolaire est très réduite, souvent même représentée par un seul nucléole et le premier fuseau intranucléaire occupe tout le noyau. Telles sont les mitoses observées par CUÉNOT chez certains *Monocystis*. Nous en avons revu de pareilles chez *Stomatophora*.

Tantôt une grande partie du noyau est rejetée sans contribuer à la formation de la première mitose. Il en est ainsi chez le *Mono-*

cystis ascidiae (SIEDLECKI) et chez les *Monocystis* de *Lumbricus herculeus* (BRASIL). Tantôt enfin le premier fuseau est très petit par rapport au noyau primitif et mérite le nom de micronoyau (*Diplocystis* d'après CUÉNOT). Cependant la formation de ce micronoyau reste obscure et MRAZEK (1900) ne voit qu'une centrosphère éloignée du noyau là où CUÉNOT reconnait un micronucléus. Pour PROWAZEK, (1902) c'est bien un petit noyau, comme CUÉNOT le pense, et ce micronucleus vésiculaire est sorti du noyau primitif par un orifice qui se referme après son expulsion.

On n'a observé chez les *Monocystis* aucune réduction chromatique véritable. Seules peuvent être comparées à ce phénomène l'épuration nucléaire qui résulte de la première mitose (SIEDLECKI), ou l'expulsion d'un karyosome et d'une vacuole que BRASIL nous a fait connaître dans la copula des *Monocystis.* Cependant, ces épurations nucléaires sont plutôt interprétées comme la séparation de la trophochromatine et de l'idiochromatine (CUÉNOT et PROWAZEK).

Polycystidées..

Les Polycystidées, mieux connues que les Monocystidées, sont divisées en familles relativement homogènes et leur systématique plus rationnelle sera sans doute moins remaniée. Il faut cependant laisser de côté la famille des Doliocystidées que les récentes recherches de BRASIL (1908) font rentrer dans les Monocystidées intestinales. Dans leur travail sur les Grégarines et l'épithélium intestinal des Trachéates (1902), LÉGER et DUBOSCQ ont condensé la systématique des Polycystidées en les groupant seulement en quatre familles: les Clepsidrinides (= Grégarinides), les Actinocéphalides, les Stylorhynchides et les Dactylophorides. Ils rattachaient ainsi les Didymophyides aux Clepsidrinides, les Acanthosporides et les Ménosporides aux Actinocéphalides.

Pour nous, les Didymophyides représentent une famille hétérogène contenant des Grégarines de Crustacés (*Did. longissima*) à rapprocher des *Frenzelina* et des Grégarines de Coléoptères assurément très voisines des Clepsidrinides. Les Acanthosporides et les Ménosporides, bien que nettement définies par la morphologie de leurs spores, doivent être rattachées aux Actinocéphalides et comptées seulement comme sous-familles. Cette opinion que LÉGER et DUBOSCQ exprimaient dès 1903, en l'appuyant sur la morphologie des épimérites, se trouvera confirmée dans ce mémoire par l'étude de l'évolution sexuelle que nous avons suivie chez les Actinocéphalides typiques, chez les Acanthosporides et les Ménosporides.

En revanche, Léger et Duboscq (1904) ont retiré ultérieurement des Clepsidrinides les Sténophorides propres aux Diplopodes pour en faire une cinquième famille.

Quant aux *Frenzelina* qui représentent une partie des anciennes Aggregatidae de Labbé, elles semblent, d'une part, avoir des affinités avec certaines Clepsidrinides comme *Hyalospora*, d'autre part, cytologiquement et morphologiquement, elles rappellent les Sténophorides. C'est dans cette famille que nous les rangerons provisoirement, ne voulant pas créer de groupement nouveau pour des Grégarines insuffisamment connues.

Voyons maintenant l'état de nos connaissances sur la sexualité dans ces cinq familles.

Stylorhynchides.

Léger (1901) montre que chez les *Stylorhynchus* les gamètes sont hautement différenciés. Les uns, désignés comme spermatozoïdes, sont munis d'un rostre et d'un flagelle postérieur dont la racine vient s'insérer sur un centriole situé à la base du rostre antérieur; un autre centriole est placé au pôle opposé. Les autres, les oeufs, sont globuleux sans appendice locomoteur, mais pourvus aussi d'un centriole géminé. Il distingue deux sortes de noyaux au cours de la gamétogénèse, les uns qu'il appelle somatiques resteront inutilisés au milieu des lobules formateurs de gamètes, les autres deviendront en se multipliant les noyaux des gamètes. Il donne la véritable signification de la danse des sporoblastes, qui n'est pas autre chose que le mouvement des spermatozoïdes au milieu des éléments femelles. Il décrit en même temps les diverses phases de l'ovogenèse et de la spermatogenèse et signale deux formes de spermatozoïdes. Les uns, fertiles, sont pourvus d'un noyau normal pareil à celui des oeufs, dont ils ont d'ailleurs la taille. Les autres, stériles, plus grands, ont un noyau antérieur à chromatine condensée, comme en pycnose.

Léger montre encore que, dans la copulation, noyaux, centrosomes et karyosomes des deux gamètes s'unissent chacun à chacun. Enfin il suit la transformation de la copula en sporocyste et signale la polygamie.

Clepsidrinides.

Des premiers travaux sur les Clepsidrinides nous ne trouvons à retenir pour l'étude de la sexualité que les accouplements de sporadins connus depuis longtemps et bien étudiés par Bütschli. Dans la

première mitose, Roboz (1886) croit voir une émission d'un globule polaire, mais ses affirmations ne sont pas prises en considération (voir Cuénot).

Berndt (1902) établit la stérilité des kystes solitaires ou des kystes à plus de deux individus. Dans les kystes normaux, c'est-à-dire à deux individus, un individu est plus clair que l'autre, et malgré cette différence, les gamètes produits sont égaux et immobiles. Remarque intéressante, le reliquat somatique présente des mouvements destinés à brasser les gamètes.

Léger (1904) signale incidemment l'anisogamie des Clepsidrinides, que pouvait faire prévoir la différence de coloration souvent très nette entre les individus d'un couple.

Paehler (1904) revoit comme Berndt des gamètes semblables mais découvre chez ceux-ci avant la copulation une expulsion chromatique qu'il interprète comme réduction chromatique.

Schnitzler (1905) montre que la première division nucléaire, début de la formation des gamètes, est effectuée par un micronoyau qui se constitue aux dépens d'une très faible partie du noyau primitif. Il précise les phénomènes de la réduction chromatique qu'il observe dans tous les gamètes.

Kuschakewitsch (1907) voit naître au contraire les premiers noyaux d'un chromidium formé par la fonte du noyau primitif. Il confirme l'isogamie des gamètes et interprète à sa façon la réduction chromatique.

Ainsi donc, chez les Clepsidrines, d'après tous les auteurs précités, sauf Léger, la conjugaison est isogame. D'après Paehler et Schnitzler la copulation est précédée d'une véritable réduction chromatique du noyau des deux gamètes.

Sténophorides et Frenzelina.

Chez les Sténophorides, Grégarines des Diplopodes, les phénomènes de la sexualité n'ont jamais été décrits. Qu'ils existent, cela n'est pas douteux, puisqu'on connait les spores durables observés par Schneider (1875) et par Léger et Duboscq (1904).

Pour les *Frenzelina*, l'enkystement a été observé par Frenzel (1885) et les accouplements de gamontes ont été figurés, il y a plus d'un siècle, par Cavolini (1787), mais on ignorait leur véritable évolution avant la note que Léger et Duboscq ont publiée récemment (1907). Nous y reviendrons ici plus longuement.

Actinocéphalides.

En dehors de l'accouplement, prélude de l'enkystement observé par les anciens auteurs, rien n'est connu de la sexualité chez les Actinocéphalides proprement dits. On n'en sait pas davantage sur les Acanthosporides et les Ménosporides qui, pour nous, sont de simples sous-familles des Actinocéphalides. Les spores sont de forme si particulière et si caractéristique chez ces divers types qu'une étude des processus sexués nous a paru intéressante. Elle montrera que l'évolution du kyste, toujours la même, justifie l'extension que nous avons donnée à la famille des Actinocéphalides.

Dactylophorides.

Les processus sexués étaient ignorés chez les Dactylophorides parasites des Myriapodes chilopodes, avant la note que Léger et Duboscq (1903) ont publiée sur *Pterocephalus nobilis*. Ces auteurs ont montré une hétérogamie extrême, reconnaissable pendant toute la durée du développement.

Schellack (1907 b), étudiant l'*Echinomera hispida* du *Lithobius*, a confirmé leurs observations dans ce qu'elles ont d'essentiel et fait connaître le premier fuseau formé aux dépens d'un micronoyau apparaissant à l'intérieur du noyau primitif. Nous reviendrons d'ailleurs longuement sur les résultats de Schellack en les comparant aux nôtres que nous publions ici en détail.

Comme on le voit, l'histoire de la sexualité chez les Grégarines présente encore beaucoup de contradictions et beaucoup de lacunes. Notre travail n'a pas la prétention de les faire disparaître toutes, et, au surplus, il est limité aux Polycystidées.

Nous commençons par décrire assez longuement l'évolution sexuée des *Pterocephalus*, type des Dactylophorides. Nous abordons ensuite, en insistant seulement sur les particularités propres à chaque groupe, l'étude des Actinocéphalides s. lat. (c'est-à-dire, des Ménosporides, des Actinocéphalides sensu stricto), et des Acanthosporides, puis celle des Clepsidrinides. Enfin, dans un dernier chapitre consacré aux Grégarines des Crustacés, nous examinons comparativement l'évolution des *Aggregata* et de la *Porospora* du Homard, et nous exposons les résultats de nos observations sur la reproduction sexuée des *Frenzelina*.

II. Evolution sexuée de *Nina gracilis* Grebnicki (= *Pterocephalus nobilis* A. Schneider.).

Historique. En décrivant sous le nom de *Pterocephalus nobilis* la Grégarine de *Scolopendra cingulata* [1]) précédemment signalée par Grebnicki [2]), Schneider 1887 ne nous donna aucune description du kyste, mais seulement une figure déjà instructive puisqu'elle montre un hémisphère clair et un hémisphère foncé.

Léger (1892) confirma ce caractère du kyste pour le *Dactylophora robusta*, puis (1896) fit connaître chez *Rhopalonia* le mode de déhiscence particulier déterminé par le „pseudokyste latéral", c'est-à-dire par l'hémisphère stérile. Mais le mode de formation de ce pseudokyste ne pouvait être expliqué que par l'évolution des Grégarines enkystées, que Léger et Duboscq (1902, 1903a) nous firent connaître.

Ces auteurs montrèrent que, chez *Nina*, l'anisogamie était si profonde qu'on pouvait distinguer le mâle de la femelle à tous les moments de développement du kyste. Les deux Grégarines ont un cytoplasme différent et le mâle présente parallèlement à la surface d'accolement une plage particulière qui permet de le reconnaître même à un faible grossissement. La plupart des grains chromatiques du gros noyau primitif ont la valeur de grains nucléolaires et sont rejetés au moment de la première mitose. Les noyaux issus de la première division se multiplient par mitose, et dans ces mitoses sont signalés pour la première fois la présence de centrioles géminés et d'un chromosome particulier, très net durant l'anaphase, le chromosome axial.

Les noyaux sont distribués dans le cytoplasme de façon variable selon le sexe de la Grégarine. Chez le mâle, ils restent tous péri-

---

[1]) Schneider appelle à tort *Scolopendra morsitans* les Scolopendres qu'il reçut de Banyuls où il n'existe que *Scolopendra cingulata*, var. *hispanica*.

[2]) Par un extrait d'un travail récent de Pierre Mavrodiadi (Balanes de la Mer Noire et les Grégarines leurs parasites. Odessa 1908) nous apprenons que Grebnicki a trouvé dès 1873, dans l'intestin de *Scolopendra cingulata* Latr. une Grégarine qu'il appela *Nina gracilis*, en montrant qu'elle devait être le type d'un genre nouveau. (Voir Mémoires de la Société des Naturalistes de Nouvelle Russie. Odessa 1873.) C'est bien la même Grégarine que Schneider retrouva en 1887 en la désignant sous le nom nouveau de *Pterocephalus nobilis*, qui fut accepté jusqu'à ce jour. Nous devons donc suivre Mavrodiadi et restituer à la Grégarine parasite de *Scolopendra cingulata* le nom de *Nina gracilis* Grebnicki, qui a la priorité.

phériques, tandis que chez la femelle ils ne gagnent la surface qu'au premier stade et se répandent ensuite par tout le cytoplasme.

A la multiplication nucléaire succède la formation des gamètes. Les gamètes mâles ou spermatozoïdes sont de très petits éléments virguliformes, légèrement comprimés latéralement et presque uniquement formés de chromatine. Leur corps se termine antérieurement par un rostre recourbé et postérieurement par une queue ou flagelle.

Les gamètes femelles ou oeufs, d'abord ovoïdes, deviennent cylindriques à bouts arrondis, mesurant 9 à 10 μ de longueur. Ils remplissent la plus grande partie du kyste et tout le cytoplasme femelle est employé pour les former. Chez le mâle, il reste au contraire un gros reliquat cytoplasmique qui constitue le pseudokyste.

Léger et Duboscq signalent avant la fécondation une sorte de réduction cytoplasmique, expulsion par l'oeuf d'un globule composé uniquement de cytoplasme, et n'observent aucune réduction chromatique véritable.

Schellack (1907 a, 1907 b) a vérifié sur *Echinomera hispida*, Grégarine du *Lithobius forficatus*, la plupart des faits annoncés pour *Nina* par Léger et Duboscq. Sans parler du développement entièrement extra-cellulaire des premiers stades, Schellack donne d'*Echinomera* une évolution pareille à celle de *Nina*. Les cytoplasmes sont différents dans les deux sexes et les noyaux se distribuent de la même façon que chez *Nina*, de sorte que finalement tout le cytoplasma femelle est employé à la formation des œufs, tandis qu'il reste un gros reliquat mâle dont la surface seulement est occupée par les spermatozoïdes. Les gamètes, à des différences de taille près, sont semblables à ceux de *Nina*.

Ce que Schellack ne confirme pas et met en doute, c'est d'abord la présence de centrioles dans les mitoses, puis la réduction cytoplasmique.

Parmi les faits nouveaux, signalons l'interprétation du chromosome axial que Schellack a retrouvé et qu'il homologue au „chromosome accessoire" à cause de ses relations avec le nucléole, puis et surtout, la formation du nouveau noyau ou micronucleus aux dépens du gros noyau primitif. Schellack voit le micronucleus tout formé avec son centrosome à l'intérieur du noyau primitif. Ce micronucleus est là au repos et n'entre en mitose qu'après la fragmentation et l'éparpillement du noyau primitif.

Nous ne nous étendrons pas davantage sur cet historique. Au cours de la description de l'évolution de *Nina*, nous aurons

à rappeler les résultats des auteurs qui nous ont précédés pour les comparer aux nôtres et l'on verra mieux en quoi les uns et les autres concordent ou diffèrent.

Enkystement. — On n'a fait jusqu'ici aucune étude des phénomènes qui précèdent l'enkystement chez *Nina*, pas plus d'ailleurs que chez les autres Dactylophorides. Sans doute, on connaît depuis longtemps les sporadins, puisque Kölliker (1848) les a figurés. Crawley (1902) et Schellack (1907b) ont étudié les mouvements de ces sporadins chez *Echinomera*. Mais les changements de structure que nous allons signaler paraissent avoir échappé aux divers observateurs.

Il importe d'abord d'examiner les grands céphalins. Si l'on colore par la méthode de Mallory un intestin de Scolopendre parasité par les *Nina*, un fait curieux attire l'attention. Jusqu'à une certaine taille, les céphalins ont le protomérite bleu et le cytoplasme d'un rouge violet (*a* fig. 46 pl. III). Puis, au moment où ils ont atteint leur plus grande taille, quand ils sont prêts à passer à l'état de sporadins, protomérite comme deutomérite sont colorés en bleu franc. Il n'y a plus de granulations violettes et on ne voit plus, en dehors des corpuscules de paramylon restés clairs, qu'un réseau chargé de grains bleus (*b* fig. 46 pl. III). Pour nous, ces granulations bleues caractérisent l'état sexué. Les sporadins libres se coloreront de la même façon que ces gros céphalins et nous reverrons dans le kyste des granulations bleues qui nous serviront même à distinguer le sexe. Malheureusement, nous ne sommes pas parvenus à élucider l'origine de ces granulations et nous signalerons seulement que leur apparition est précédée d'un autre phénomène.

Tant que les céphalins sont de taille modérée, leur cytoplasme est uniformément dense, ainsi que Léger et Duboscq l'ont représenté dans un travail précédent (1902). Le noyau est alors situé vers le centre du deutomérite et contient, comme éléments chromatiques, quelques gros nucléoles dont l'un plus gros que les autres. Pendant toute la durée de l'accroissement, des corpuscules chromatiques semblent émis dans le cytoplasme. En tout cas, les corpuscules chromatiques qu'on trouve dans le cytoplasme sont semblables comme aspect et comme qualités chromatiques aux petits nucléoles.

Dans les grands céphalins, au contraire, le noyau a toute sa matière nucléolaire pulvérisée en un très grand nombre de corpuscules. Le noyau est chargé de très nombreux grains de petite taille dont les plus gros ont nettement les réactions nucléolaires, mais dont

la plupart des petits, sans être de même valeur, représentent tout au moins de la trophochromatine, comme le démontre la suite de l'évolution. Or, dans ces grands céphalins, on voit le noyau, qui est refoulé du côté du protomérite (*a* fig. 46 pl. III), émettre dans le cytoplasme une fusée de matière chromatique, qui semble déterminer une liquéfaction de toute la partie axiale de la Grégarine. Cette liquéfaction s'étend en nombreuses fusées latérales à travers le cytoplasme et l'on comprend comment, à ces stades, les parasites sont difficiles à obtenir en bon état de fixation. A cause de cela, les structures sont critiquables et les espaces ou fusées montrées par les pièces les mieux fixées peuvent être interprétées comme artefacts; mais ce qui ne peut être mis en doute c'est cet état très liquide que prend le cytoplasme au moment de l'émission des produits nucléaires. Il y a donc à ce moment formation d'un premier chromidium auquel nous croyons pouvoir attribuer la s e x u a l i s a t i o n du cytoplasme, si l'on peut ainsi parler. Nous retrouverons ces fusées chromidiales dans les Grégarines enkystées. Disons dès maintenant qu'elles ne donnent jamais naissance directement à des noyaux et que ceux-ci peuvent tout au plus trouver dans ce chromidium un matériel de nutrition pour leur multiplication rapide durant la sporulation.



Fig. 1. Sporadin cylindrique venant de se détacher.

Les céphalins, une fois détachés et passés à l'état de sporadins, conservent cette structure liquéfiée qui se manifeste sur les pièces fixées par de grandes vacuolisations du cytoplasme périphérique.

On peut, sur le vivant, observer les divers stades de la régression du protomérite.

Au début du détachement, la Grégarine conserve encore toute sa structure de céphalin; elle n'a abandonné, en se détachant, que ses prolongements cytoplasmiques ou suçoirs intra-épithéliaux; c'est-à-dire que les lobes postérieurs et la cornicule sont très distincts et seulement contractés et repliés comme une main qui se ferme (fig. 1 texte). A l'extrémité de la cornicule se voit par transparence le noyau protoméritique (*n. p*).

Le protomérite ne tarde pas à se condenser, et, de toutes les différenciations qu'il montrait, il ne reste bientôt plus que quelques

bourrelets irréguliers dont l'un, plus gros que les autres, correspond à l'extrémité de la cornicule et contient toujours le noyau protoméritique. Le deutomérite se condense simultanément, et les sporadins immobiles se transforment ainsi en sortes de têtards, c'est à dire d'êtres globuleux antérieurement et pourvus d'une queue (fig. 2 et 3 texte). C'est un stade très commun de leur évolution, mais il n'est



Fig. 2.



Fig. 3.



Fig. 4.

Fig. 2. Sporadin montrant encore une région antérieure protoméritique; *n. p.* noyau du protomérite.

Fig. 3. Sporadin avec zone protoméritique latérale.

Fig. 4. Sporadin en contraction avancée.

pas constant et certains sporadins se contractent plus régulièrement en restant cylindriques (fig. 1 et 4). Nous avons recherché si les différences de forme correspondaient à des différences de sexe, ainsi que Schellack paraît l'avoir observé chez *Echinomera.* A notre avis, il n'y a rien de constant dans les divers aspects qu'on peut observer, de sorte qu'il n'est pas possible, croyons-nous, de reconnaître sur le vivant le mâle de la femelle dans un couple qui se prépare à l'enkystement. Le seul caractère différentiel est la plage de matière mucoïde, propre au mâle. Elle n'est visible que sur les coupes.

Quoiqu'il n'y ait conjugaison qu'au stade de condensation presque complète des sporadins, les individus qui s'uniront sont d'ordinaire rapprochés par couples. Tantôt les deux individus sont placés en croix l'un sur l'autre à peu près comme chez *Lithocystis Schneideri*, tantôt, ils sont simplement l'un contre l'autre, souvent tête bêche

(fig. 5 texte) et pouvant se toucher par quelque point. Les phénomènes d'attraction plus intense ne se manifestent qu'au moment de l'enkystement. Les deux sporadins sont donc simplement l'un au voisinage immédiat de l'autre durant tout le temps que dure la contraction.

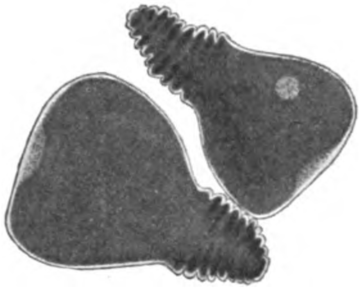


Fig. 5.
Un couple de sporadins de *Nina* se contractant avant l'enkystement.

Comme nous l'avons dit, les premières phases de la contraction ont pour résultat ordinaire la transformation du sporadin en une sorte de têtard. Le protomérite s'atrophie progressivement, tout en restant visible très longtemps à la partie antérieure, d'abord comme une calotte claire à surface verruqueuse (fig. 2 texte), puis en forme de petite lentille claire n'occupant que la région centrale de la partie apicale.

Vu en lumière transmise, le protomérite qui ne paraît pas contenir de paramylon est toujours transparent, tandis que tout le deutomérite est opaque et noir.

La région antérieure grossit d'une façon continue aux dépens de la partie postérieure, laquelle, dans la contraction, se plisse en accordéon jusqu'à réduire à un lobe court la région caudale. Qu'il s'agisse d'enkystement solitaire ou d'enkystement à deux, la région caudale ne se fond pas progressivement — du moins d'ordinaire — dans la région antérieure. L'état globuleux du sporadin n'est obtenu que par le reploiement de la queue (fig. 6 et 7 texte) et celle-ci ne devient indistincte qu'après l'enkystement complet (fig. 8 texte).

Le sporadin qui s'enkyste solitairement (cas assez rare) ne secrète même pas d'enveloppe protectrice et reste stérile. Nous n'avons jamais observé d'enkystement à plus de deux individus.

Durant l'enkystement par couple, les Grégarines se frottent l'une contre l'autre en tournant chacune pour son compte et, pendant cette rotation, le mucus est secrété et progressivement les plis s'effacent. La membrane doit par là même subir une rétraction intense. Quand les plis sont disparus, les deux Grégarines sont intimement accolées l'une à l'autre, protomérite contre protomérite, ainsi que le démontre la coupe des kystes. Mais ceci ne peut se constater sur le vivant et même on pourrait croire observer le contraire.

En effet, quand l'enkystement est à peu près complet, on voit aux pôles du kyste (le plan de séparation étant considéré comme

plan équatorial) une zone claire qui disparait assez vite par la condensation. Cette zone n'a rien à voir avec les lentilles protoméri-

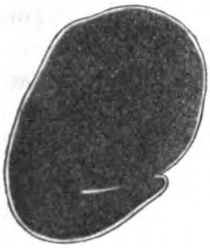
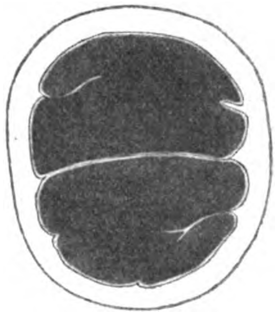
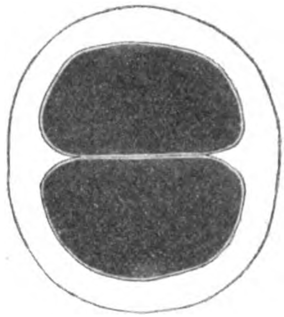




Fig. 6. Fig. 7. Fig. 8.

Fig. 6. Sporadin de *Nina* se préparant à l'enkystement solitaire.
Fig. 7. Début de l'enkystement d'un couple de *Nina*.
Fig. 8. Enkystement presque complet de *Nina*.

tiques qui sont invisibles du fait de leur position centrale. Elle représente simplement la partie liquide du cytoplasme qui finit d'être expulsée à la fin de l'enkystement (fig. 9 texte).

L'enkystement est définitif quand tout le cytoplasme est apparemment homogène, c'est-à-dire condensé. Alors les deux Grégarines forment une sphère presque parfaite où l'on reconnaît cependant assez facilement le plan de séparation. Une épaisse couche de mucus protège les conjoints contre la dessication et contre l'envahissement par les parasites.

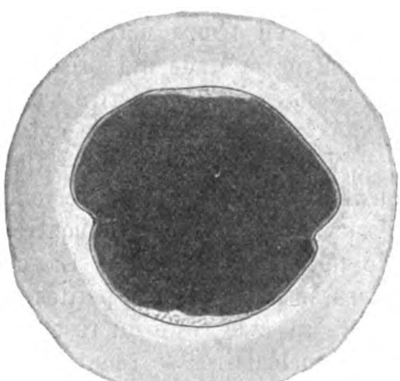


Fig. 9.
Fin de l'enkystement. Expulsion de liquide aux pôles du kyste.

Toutes les phases de l'enkystement se passent à l'intérieur de l'intestin de la Scolopendre, les premières dans l'intestin moyen, les dernières dans le rectum. Les kystes expulsés sont déjà à un état assez avancé de développement. Le noyau s'est toujours multiplié et parfois les noyaux de multiplication ont déjà gagné la périphérie du kyste, c'est ce que nous appelons, pour la commodité de la description, le troisième stade de développement.

Evolution du kyste. — Nous distinguerons en effet dans l'évolution du kyste huit stades successifs:

Le premier stade correspond au noyau au repos et se termine à la première mitose (fig. 1 pl. I).

Le deuxième stade est représenté par la dispersion des noyaux qui se multiplient à travers tout le kyste (fig. 3 pl. I).

Le troisième stade, par la disposition périphérique des noyaux chez le mâle et chez la femelle (fig. 4 pl. I).

Le quatrième stade, par le retour des noyaux femelles vers la région centrale du kyste (fig. 5 pl. I).

Le cinquième stade, par l'arrangement réticulaire des noyaux femelles (fig. 6 pl. I).

Le sixième stade, par la formation des spermatozoïdes et des œufs.

Le septième stade correspond à la fécondation et montrera le reliquat mâle d'où se sont détachés les spermatozoïdes (fig. 7 pl. I).

Le huitième stade termine l'évolution et aboutit à la déhiscence du kyste (fig. 8 pl. I).

Stade I.

Les Grégarines, étant complètement enkystées, restent au repos pendant un temps notable; c'est pourquoi il n'est pas difficile de rencontrer le stade qui précède la première mitose.

Nous avons à décrire successivement les noyaux primaires, les noyaux protoméritiques, le cytoplasme et la membrane du kyste.

Noyau primaire. — Chez *Echinomera*, Schellack a trouvé qu'au moment de l'enkystement le noyau s'accroît énormément par absorption de liquide et montre ainsi des karyosomes épars dans un suc nucléaire abondant. La chromatine contenue dans ces karyosomes se rassemble en petites sphérules et se détache pour se confondre avec le reste du réseau chromatique, puis les sphérules purement nucléolaires se réunissent en un très gros karyosome achromatique creusé de nombreuses vacuoles.

Les choses ne se passent pas de la même façon chez *Pterocephalus.* Dans le noyau au repos des Grégarines enkystées, on ne voit jamais un abondant suc nucléaire et par conséquent on n'observe pas la structure fluide avec réseau à grandes mailles signalée par Schellack.

Depuis le stade de sporadin, le noyau a une structure très dense. Il est limité par une membrane épaisse à double contour. C'est un réseau de linine très serré portant de fins grains peu colo-

rables et de très nombreux grains chromatiques qui sont de deux sortes. Les uns se comportent comme des nucléoles, ce sont les plus rares et les plus gros; ils mesurent de 1 μ 5 à 9 μ. Beaucoup d'entre eux présentent des vacuoles. Ils se colorent en rouge par la méthode de MANN et dans les préparations à l'hématoxyline au fer et à l'orange, ils peuvent être décolorés facilement et ne prendre que la couleur acide (fig. 1 et 9 pl. I). Les autres plus petits et très nombreux se colorent sur le frais faiblement au vert de méthyle, sont fortement sidérophiles après fixation, mais se colorent en rouge par la méthode de MANN. Nous sommes autorisés par ces réactions et encore plus par la suite de l'évolution à les appeler grains de trophochromatine. Il semble bien d'ailleurs qu'on observe tous les passages entre les grains de trophochromatine et les nucléoles vrais.

Existe-t-il de la vraie chromatine nettement colorable par le vert de méthyle et nettement sidérophile après fixation? Sans doute, mais comme elle est certainement peu abondante, nous n'avons pu la distinguer de la trophochromatine. Il est très possible d'ailleurs qu'à ce stade la chromatine transmissible ou idiochromatine soit peu colorable.

SCHELLACK a trouvé l'idiochromatine sous la forme d'un petit noyau à l'intérieur du premier. C'est une petite vésicule limitée par une membrane très mince, mais très nette, remplie d'une poussière chromatique et de quelques grumeaux plus gros, enfin déjà flanquée de son centrosome qui se trouve ainsi avoir comme le micronucleus une origine intranucléaire. Des résultats pareils avaient été annoncés par PROWAZEK (1902) qui avait vu sortir ce micronucleus du noyau primitif chez un *Monocystis* de Lombric.

Pour nous, tout en restant plus réservés, nous croyons voir aussi l'ébauche d'un petit noyau à l'intérieur du premier, mais pas dans tous les noyaux au repos. Aussi nous ne décrirons que plus loin cette formation intranucléaire, parce que nous la croyons tardive et caractéristique de l'approche de la désagrégation nucléaire.

Noyau protoméritique. — LÉGER (1899) figura dans le rostre des grands céphalins de *Nina* une vacuole que LÉGER et DUBOSCQ (1903 a) reconnurent ultérieurement être un véritable noyau protoméritique. Ces auteurs ont montré que ce noyau apparaît de bonne heure, sans avoir malheureusement pu établir sa genèse. Dans le kyste, le noyau protoméritique a toujours une position précise. Il est situé dans ce cytoplasme spécial formant une plage au niveau du plan d'accolement, et qui est le reste du protomérite. Il occupe la partie la plus large de cette plage, qui est d'ailleurs

étroite, et les noyaux protoméritiques de chaque Grégarine se trouvent par là même se faire vis-à-vis, de sorte qu'on les rencontre assez souvent dans la même coupe (*np* fig. 45 pl. III). Il y a cependant quelque chose d'artificiel à figurer, comme nous l'avons fait, les noyaux protoméritiques et les gros noyaux primaires sur une seule image (fig. 1 pl. I). Ces divers noyaux ne sont pas dans un même plan et il faudrait une coupe très épaisse pour obtenir une telle représentation.

Le noyau protoméritique a son maximum de grosseur chez les sporadins et les Grégarines récemment enkystées, où il mesure 8 μ environ. Il disparaît durant le deuxième stade de développement du kyste.

Dans les Grégarines des kystes au premier stade, ce noyau protoméritique est composé d'une masse acidophile ovalaire dans laquelle on distingue, dans la partie centrale, une région plus condensée, moruliforme, avec un grain sidérophile au centre de chaque sphérule. Parmi les grains de chromatine périphérique, on en trouve un ou deux plus gros, sphériques, d'aspect nucléolaire; les autres sont en grumeaux lancéolés et comme disposés selon des cercles concentriques. La membrane de ce noyau est délicate et difficile à voir, mais se trouve très nettement démontrée par la méthode de Mallory.

Le noyau protoméritique n'a pas été retrouvé chez *Echinomera* par Schellack, et cet auteur n'a vu, dit-il, dans le protomérite qu'une nébuleuse chromatique plus ou moins vacuolisée. Mais on peut remarquer que dans la figure 22, pl. X de son mémoire, une des Grégarines est représentée avec un noyau protoméritique bien limité. Il est au surplus très possible que les Grégarines du *Lithobius* ne possèdent pas cette formation qu'on ne connaît nulle part ailleurs avec cette netteté. Léger (1906) a seulement observé un élément comparable chez la *Gregarina socialis* d'*Eryx ater*, où il existe dans le protomérite, d'une façon constante, un corps nucléoïde entouré d'une aréole claire.

Quelle est la signification de ce noyau protoméritique? Faut-il avec Dogiel (1908) considérer les Grégarines dicystidées comme formées d'une cellule végétative ou somatique qui serait le protomérite et l'épimérite, et d'une cellule sexuelle, germinale, qui serait le deutomérite avec son vrai noyau. Alors *Nina* nous représenterait l'état primitif des Grégarines dicystidées, avec un noyau somatique bien distinct du noyau deutoméritique. Chez les autres polycystidées ce noyau protoméritique pourrait n'être représenté que par un corps nucléoïde ou une nébuleuse chromidiale.

Une autre hypothèse est admissible. L'étude du développement des *Aggregata* a convaincu Léger et Duboscq (1908) de ce fait important que le centrosome se trouve situé à l'extrémité antérieure du sporozoïte, c'est-à-dire dans la région qui se fixe à l'épithélium; et par conséquent, chez *Nina*, dans la cornicule. Le noyau protoméritique ne serait-il pas le controsome hypertrophié et dont les grains se seraient multipliés, ou plutôt, le centrosome entouré de chromidies ou mitochondries, comme une sorte de noyau vitellin? Tant qu'on ignorera l'origine de ce noyau protoméritique les interprétations de sa valeur morphologique manqueront de base.

Dans l'étude que nous avons faite des noyaux primaires et protoméritiques, nous ne nous sommes pas occupés du sexe des Grégarines. Et en effet nous n'avons jamais pu déterminer le sexe des Grégarines par l'étude des noyaux, qui nous ont paru semblables chez le mâle et chez la femelle. Si dans un couple on observe des différences, elles n'ont rien de constant. Ainsi nous avions noté souvent dans les noyaux primaires du mâle des nucléoles plus gros que chez la femelle. Mais ceci n'a rien d'absolu, et, comme la grosseur des nucléoles dépend du stade des transformations nucléaires où on les envisage, deux noyaux qui ne sont pas rigoureusement au même stade n'ont pas les mêmes aspects.

Il est vrai que s'ils ne sont pas rigoureusement au même stade, d'une façon générale l'évolution marche cependant de pair dans les deux Grégarines et, si l'une est en avance sur l'autre, c'est toujours d'un degré très minime. Aussi n'avons-nous jamais pu observer de protérandrie.

A l'encontre des noyaux, le cytoplasme est foncièrement différent selon le sexe et doit être étudié successivement chez le mâle et chez la femelle.

Cytoplasme mâle. — Tout d'abord on constate que le cytoplasme de la Grégarine mâle est moins transparent, plus opalin que celui de la Grégarine femelle. Il semble qu'il soit imprégné tout entier d'une sorte de matière muqueuse, qui dans son ensemble le rendrait plus colorable par les colorants acides. Cependant le ton plus foncé du cytoplasme mâle tient avant tout aux différentes particularités de sa structure.

Il est formé fondamentalement d'un réseau alvéolaire, englobant dans ses mailles les grains de paramylon. Les alvéoles, petits, mesurent en diamètre de 1 μ à 1 μ 5.

Sur le réseau alvéolaire dont la trame est sans doute une substance hyaline, l'alvéoline de FRENZEL, on distingue deux sortes de grains. Dans les préparations colorées par la méthode de HEIDENHAIN, les uns, les plus gros, apparaissent gris, c'est-à-dire faiblement colorés, les autres achromatiques ou tout au moins très faiblement acidophiles.

A l'intérieur des alvéoles, les grains de paramylon, un par maille, ne se reconnaissent qu'à leur centre très brillant, très réfringent. Il faut ajouter à cette structure générale quelques sphérules sidérophiles de la taille des nucléoles, éparses à travers le cytoplasme, puis une couche périphérique de corpuscules également sidérophiles, qui commence d'apparaître avant la désagrégation du noyau primaire. Rien ne prouve qu'il s'agisse là d'un chromidium, comme le croit SCHELLACK. Ces sphérules peuvent cependant tirer leur origine des nucléoles expulsés puisque, pendant toute la croissance de la Grégarine, on assiste à l'expulsion dans le cytoplasme de sphérules nucléolaires. Un fait important cependant doit être signalé. Nous verrons par la suite que ces sphérules semblent croître et se multiplier par division. On trouve en effet des formes ovalaires ou en biscuit qui ne paraissent pouvoir s'interpréter que comme la multiplication sur place de ces grains sidérophiles de la couche corticale (fig. 13 pl. II).

On ne confondra pas cette couche corticale avec les fusées de grains sidérophiles très fins qui sont toujours visibles au début de l'enkystement. On observe en effet dans toutes les coupes une ou plusieurs plages d'une matière sidérophile d'aspect chromidial, faite de grains en chaînettes, comme des mitochondries, se colorant comme la chromatine par diverses méthodes (fig. 1, 2 pl. I). Nous pensons que ces plages sont les restes de cette fusée de matière nucléaire expulsée dans le cytoplasme à la fin de la vie du céphalin; nous proposons de leur attribuer le nom de chromidium primaire.

Il n'est pas douteux que ces plages chromidiales correspondent à des régions cytoplasmiques vacuolisées et comme digérées, c'est-à-dire où on ne trouve ni le réseau alvéolaire ni le paramylon. Elles sont destinées à disparaître pendant la multiplication des noyaux.

La structure générale que nous venons de décrire pour le cytoplasme de la Grégarine mâle se trouve modifiée dans toute la zone qui avoisine le plan de séparation.

D'abord dans la région centrale, il existe comme une lentille d'un protoplasma spécial, c'est le reste du protomérite, cytoplasme

très dense, homogène ou à grains très fins et montrant çà et là quelques granules sidérophiles et surtout le noyau protoméritique (fig. 1 pl. I et *s* fig. 45 pl. III). Enfin, autour du protomérite et s'étendant parallèlement au plan de séparation, se trouve cette plage de corpuscules spéciaux, ressemblant à un champ musculaire et que, pour cette raison, Léger et Duboscq ont appelée plage musculoïde. Nous substituons à ce mot le nom de plage mucoïde, car ces corpuscules spéciaux ont toutes les réactions et prennent la plupart des colorations caractéristiques du mucus qui enveloppe et protège le kyste grégarinien. Ces corpuscules apparaisent comme lamelleux ou parallélipipèdiques, semblant aussi se découper, se diviser en lamelles plus minces, et cependant ces formes inattendues paraissent bien se rapporter à une sorte de sécrétion voisine du mucus. Quoiqu'il en soit, cette matière est tout à fait caractéristique de la Grégarine mâle et elle n'apparaît sous cette forme que durant les premiers stades de l'enkystement. Nous la verrons ultérieurement se condenser en sphères de grosseurs diverses qu'on retrouvera chez le mâle durant toute l'évolution.

La plage mucoïde s'arrête au niveau de la zone protoméritique. Cependant, le long de cette zone, on trouve encore des sphérules d'une substance analogue, substance intermédiaire par ses réactions vis-à-vis des colorants entre les sphérules sidérophiles et les corps mucoïdes. Du côté de la surface externe la plage mucoïde se prolonge un peu, ainsi que le montrent nos figures (fig. 1 pl. I et fig. 40 pl. III), en s'égrenant en corpuscules plus petits que l'on ne peut confondre avec les sphérules sidérophiles de la couche corticale.

C y t o p l a s m e f e m e l l e. Le cytoplasme femelle, bien que différant nettement du cytoplasme mâle par son aspect général même à un faible grossissement, présente néanmoins la même structure fondamentale avec beaucoup d'éléments communs.

Les épicytes des deux Grégarines sont semblables et restent complètement distincts le long du plan d'accolement. Les aspérités et protubérances de l'un s'engrènent dans des dépressions correspondantes de l'autre et l'on s'explique facilement par cette disposition l'intime adhérence des conjugués (fig. 45 pl. III). Semblables aussi les deux protomérites qui se font vis-à-vis et si, sans doute, on note des différences pour chaque cas particulier soit dans la colorabilité, soit dans l'extension et les caractères de la zone protoméritique, ce sont là des variations sans constance et qui ne peuvent servir à déterminer le sexe.

Dans le cytoplasme femelle nous trouverons encore les plages

chromidiales, éparses comme chez le mâle, et avec les mêmes caractères: amas de grains se colorant comme la chromatine et rassemblés dans une zone claire où le paramylon et le réseau alvéolaire n'existent pas (fig. 1 pl. I).

On retrouve aussi la zone corticale avec sphérules sidérophiles, et un réseau alvéolaire avec paramylon, mais c'est ici qu'une analyse attentive fait percevoir des différences très nettes.

D'abord la zone corticale avec ses grains acidophiles est moins épaisse malgré le diamètre plus grand des sphérules sidérophiles. Le réseau alvéolaire est très nettement à mailles plus grosses (mailles de 2 μ environ) que chez le mâle, ce qui semble indiquer de plus gros corpuscules de paramylon, lesquels sont difficiles à délimiter, puisqu'on ne reconnaît souvent que la partie centrale.

Comme l'ensemble du réseau n'est pas obscurci par cette infiltration muqueuse rencontrée chez le mâle, il en résulte que le cytoplasme femelle apparaît beaucoup plus clair et plus transparent que le cytoplasme mâle.

Enfin, caractère essentiel, il n'existe aucune trace chez la femelle de la plage mucoïde qui s'étend chez le mâle le long du plan de séparation.

Les microsomes colorables du réseau alvéolaire paraissent également différents, mais nous n'avons pas réussi à en obtenir des préparations aussi nettes qu'aux stades qui suivront.

Formation du micronucleus. Le phénomène important auquel nous assisterons à la fin du premier stade sera la formation d'un petit noyau ou micronucleus aux dépens du gros noyau primaire.

Schellack (1907 b) a décrit et représenté la formation du micronucleus à l'intérieur du noyau primaire. A côté du corps de reliquat — il appelle ainsi le gros nucléole plasmatique — il voit dans le noyau une vésicule à contour bien limité, remplie d'une fine poussière chromatique et de quelques grumeaux plus gros. Appliqué contre ce petit noyau est un centrosome avec granules fortement colorables. Sans avoir observé tous les stades de l'évolution, Schellack conclut que ce petit noyau donne naissance à la première mitose qu'il observe quand le noyau primaire s'est désagrégé, et, par conséquent, qu'il s'agit bien là du micronucleus de Cuénot et Prowazek.

Les faits que nous décrirons concordent en ce qu'ils ont d'essentiel avec les observations de Cuénót, Prowazek et Schellack, et préciseront certains points de cette curieuse évolution nucléaire encore insuffisamment connue.

Le noyau présentant la structure que nous avons décrite, et les nucléoles étant devenus de plus en plus acidophiles, c'est-à-dire ayant abandonné la matière sidérophile qu'ils retenaient (Trophopyrénine de Léger et Duboscq, 1908), on voit se former en son centre un amas de grains ou grumeaux chromatiques irréguliers sur un réseau dense. Une aire claire sépare cette sorte de petit noyau interne du reste du réseau nucléaire. Cependant, nous n'avons jamais vu cette formation (que, sous cet aspect, nous interprétons, sans certitude, comme l'ébauche du micronucléus) s'isoler complètement du reste du noyau. Il ne se forme pas de membrane et l'aire claire est traversée de quelques filaments qui relient le micronucléus au reste du réseau (fig. 9 pl. I).

Vient ensuite la désagrégation du noyau primitif déterminée par la résorption de la membrane, ce qui donne ainsi un chromidium secondaire. Tandis que presque tous les grains chromatiques du noyau primaire restent dans une plage fortement acidophile due sans doute à la dissolution du suc nucléaire et des éléments du réseau dit achromatique, une autre petite plage de même nature s'isole de la première. La substance acidophile qui en compose le substratum apparaît comme rayonnante, simulant un aster dans la trame duquel seraient répartis de nombreux éléments chromatiques. Au centre on trouve quelques grains de nature spéciale se présentant, à un certain stade, en vésicules creuses ou même peut-être en petits anneaux à quatre renflements comme des tétrades. Autour de ces sortes de chromosomes sont répandus des grains chromatiques de diverses grosseurs ayant absolument la même apparence que les nombreux grains chromatiques de tout le noyau primaire (fig. 10 pl. I). Cette plage archoplasmique avec éléments chromatiques spéciaux est bien l'origine du micronucleus, mais encore une fois, nous n'avons pas la certitude qu'elle corresponde à la formation intranucléaire que nous avons décrite plus haut. C'est une simple interprétation qu'autorisent les observations ou interprétations de Mrazek, Cuénot, Prowazek et Schellack. Mrazek ne voulait voir, dans la formation pareille qu'il a décrite, qu'une sphère attractive, mais ce que nous savons de la mitose chez les Grégarines ne permet guère d'admettre une sphère attractive éloignée du noyau. D'ailleurs cette prétendue sphère est ici chargée d'éléments chromatiques.

L'ébauche du micronucleus se précise ensuite et les chromosomes vésiculeux ou en anneau que nous avons vus, sont remplacés par de fins grains assez nombreux réunis dans une area claire. Cette area

n'est limitée que par le cytoplasme acidophile chargé de grains chromatiques nucléolaires (fig. 11 pl. I).

Enfin se constitue un véritable noyau très clair, qui aura un réseau avec de fins grains de chromatine peu colorables et aussi — ceci vaut qu'on le souligne — avec un certain nombre de grains de valeur nucléolaire, apparemment semblables aux nombreux grains du noyau primaire. Ce petit noyau parfaitement limité par une membrane délicate mesure 7 μ de diamètre, et l'on se rappelle que le noyau primaire mesurait 45 μ, c'est dire que le noyau de reconstitution est environ 250 fois plus petit que le noyau primitif.

Telle est la genèse de ce micronucleus qui aboutira par ses divisions successives à la formation des noyaux des gamètes. C'est donc bien un noyau sexuel et le nom de micronucleus se trouve justifié. Tout le reste du noyau peut être interprété comme noyau somatique, et n'est composé que de trophochromatine et de matière nucléolaire. Mais il importe de remarquer que le phénomène de reconstitution nucléaire n'est pas la séparation rigoureuse de l'idiochromatine et de la trophochromatine. Le micronucleus contient de la trophochromatine en même temps que le réseau peu colorable d'idiochromatine. On peut donc penser, en conformité avec les idées de R. Hertwig (1907) sur les rapports entre le noyau et le plasma que durant tout l'accroissement de la Grégarine un rapport déterminé entre le noyau et le cytoplasme se trouve maintenu par une augmentation de volume de l'un et de l'autre, que l'augmentation de volume du noyau n'est due qu'à un apport nouveau de trophochromatine, et, qu'après l'enkystement, l'individualité de la Grégarine disparaissant, ce rapport n'est plus maintenu, grâce au rejet dans le cytoplasme de la plus grande partie de la trophochromatine.

Le petit noyau reconstitué est pourvu d'un centrosome délicat, cône fibrillaire, au sommet duquel est un centriole unique (fig. 12 pl. I). Ce centrosome se trouve, par là même, différent du centrosome tel que nous le verrons ultérieurement, et cela est sans doute en rapport avec la délicatesse de la membrane nucléaire. On ne voit pas ici le cône de substance homogène, distinct des fibres, que nous rencontrerons dans les mitoses suivantes.

Nous n'avons pu reconnaître l'origine de ce nouveau centrosome, et nous n'avons pu le voir entrer en division. Sur la première mitose nous n'avons pas d'autres documents et nous supposons, d'après les résultats de Schellack et la structure du micronucleus, qu'elle ne diffère en rien des mitoses suivantes.

Stade II.

La multiplication des noyaux et leur répartition irrégulière à travers tout le cytoplasme de chaque Grégarine caractérise le second stade de l'évolution du kyste (fig. 2, 3, 40, 41 pl. I et III). C'est à la fin de ce stade que le protomérite disparaît et que la plage mucoïde du mâle se résoud en quelques grosses boules qui ne disparaîtront qu'à la fin de l'évolution.

Nous examinerons d'abord le cytoplasme, puis le noyau. C'est durant ce second stade que se précisent très nettement les caractères différentiels entre le cytoplasme mâle et le cytoplasme femelle.

Il est entendu que les deux cytoplasmes gardent une structure alvéolaire fondamentalement la même.

Au stade II, la couche corticale des grains sidérophiles est également très développée chez le mâle et chez la femelle. Mais, même pour ces structures, des différences se manifestent. Les alvéoles chez le mâle sont irrégulières et généralement plus petites, tandis que chez la femelle, elles sont très régulières et plus grandes.

La couche corticale des grains sidérophiles est très développée dans les deux sexes. Ce sont des sphérules de dimension variable et assez souvent plus grosses chez la femelle, quoiqu'il n'y ait pas là de caractère certain du sexe. Ces sphérules sont plongées dans une substance hyaline chargée de microsomes acidophiles, l'ensemble formant une zone périphérique de structure dense, non alvéolaire. Cette zone existe non seulement à la périphérie de la Grégarine, mais elle se prolonge tangentiellement au plan de séparation audessous de la plage mucoïde.

Au commencement du second stade, les grains sidérophiles sont presque tous ronds, puis, à mesure qu'ils s'accroissent, leur forme paraît indiquer qu'ils se divisent, les uns étant ovalaires, d'autres en biscuit, d'autres en larme ou revêtant d'autres aspects encore (fig. 13 pl. II). Il semble donc acquis que ces grains s'accroissent et se multiplient, mais comme leurs réactions sont voisines de celles de la chromatine, on pourrait avoir une tendance à ne voir en eux que toute la matière nucléolaire expulsée par le noyau et qui aurait gagné la périphérie. Ce chromidium serait un matériel nutritif pour les noyaux qui viendront s'y multiplier. Les mitoses qui se poursuivent rejettent aussi dans le cytoplasme de la matière nucléolaire. Toute cette chromatine dégradée gagnerait la périphérie et accroîtrait la couche corticale.

Cette opinion n'est pas tout d'abord pleinement satisfaisante, parce qu'on comprend difficilement comment le chromidium nucléaire pourrait fournir une couche aussi épaisse, mais nous avons montré que les sphérules sidérophiles se multiplient. C'est là le fait capital qui permet dès lors de tenir comme moins importante la question de leur origine première. Quant à leur destinée, elle paraît être avant tout de contribuer à la formation de l'enveloppe du kyste qui montre souvent des sphérules sidérophiles pareilles (fig. 14 pl. II).

Le cytoplasme mâle et femelle contient des granules particuliers qui se colorent en bleu par la méthode de Mallory. Nous avons dit que les gros céphalins et les sporadins avaient déjà un cytoplasme dont la maturité sexuelle était annoncée par la coloration de ces grains; mais nous n'avions pu, peut-être faute d'une technique suffisante, distinguer le sexe par l'étude de ces grains bleus. Au contraire, à partir du stade II, ces grains sont très différents chez les deux sexes. Qu'on se reporte à nos figures 40 et 41 (pl. III), on verra que chez le mâle la méthode de Mallory démontre une quantité de sphérules se colorant en bleu et mesurant près de 1 μ. Elles sont soit massives (fig. 40 pl. III), soit comme creuses avec un point colorable en leur centre (fig. 41 pl. III). Il est difficile de décider si ces grains sont intra alvéolaires ou interalvéolaires et la question a une grosse importance, car, à cause de leur apparence, ces sphérules ressemblent à la région centrale des corpuscules de paramylon.

Chez la femelle par contre, les éléments correspondants, c'est-à-dire colorés aussi en bleu vif et même d'un bleu plus intense, sont nettement interalvéolaires. Mais alors ce ne sont plus des sphérules, mais des grumeaux irréguliers, polyédriques, ou en forme de larmes, donnant l'apparence d'une substance difficile à fixer. Ils sont moins nombreux que les sphérules mâles et destinés à disparaître dans la suite de l'évolution.

Le caractère fondamental pour distinguer les deux cytoplasmes réside toujours dans la présence ou l'absence de la plage mucoïde. Cette substance est sûrement propre au cytoplasme mâle. Au début du stade II elle n'a pas varié et constitue, autour de la zone protoméritique, un disque creux, formé de corpuscules aplatis en lames comme un champ musculaire. Puis, progressivement, cette substance se condense et se ramasse en quelques grosses boules, qui restent le long du plan de séparation, tant que l'émigration des noyaux à la périphérie ne s'est pas accomplie (fig. 41 pl. III).

Le noyau protoméritique persiste sans changement au début de la multiplication des noyaux. A un certain moment, ces corpuscules

chromatiques s'allongent en bâtonnets, en sorte de chromosomes assez nombreux (fig. 27 pl. II), puis vers la fin du stade II, sa membrane n'existant plus, le noyau gonflé se désagrège et ses éléments chromatiques se confondent et disparaissent parmi les corpuscules sidérophiles situés au voisinage de la zone protoméritique (fig. 3 pl. I).

Etude des mitoses. Comme nous l'avons dit, nous n'avons pas eu le matériel pour l'étude complète de la première mitose. Nous avons une figure de fin de division qui prouve qu'elle est bipolaire et se passe probablement comme les mitoses suivantes. La difficulté de réunir le matériel du début prouve que les premières mitoses se passent très vite et semblent se continuer pendant quelque temps sans véritable stade de repos. Il faut que les noyaux soient déjà nombreux et répartis à travers tout le cytoplasme pour revenir à un véritable stade de repos caractérisé par une forme sphérique et la présence d'un centrosome simple.

On sait depuis Roboz (1886) et Henneguy (1888) que le noyau des Grégarines se divise par mitose.

Mrazek (1899) a montré que le fuseau intranucléaire présentait à chaque pôle une sphère attractive. Les figures qu'il donne de la Grégarine du *Rhynchelmis* montrent quatre chromosomes.

Siedlecki (1899) voit dans la figure mitotique du premier noyau un fuseau central développé dès la métaphase entre deux gros centrosomes entourés d'une radiation astérienne. A l'anaphase, un fuseau central fortement coloré unit les deux centrosomes. Dans les mitoses suivantes, la division commence par un stade spirème.

Cuénot (1901) confirme les données de Mrazek, mais pour lui les centrosomes avec les asters sont des formations contingentes qui manquent chez quelques espèces.

Léger et Duboscq (1903) démontrent chez *Nina* l'existence de centrioles distincts des centrosomes coniques où viennent converger les fibres du fuseau. Ils comparent le centrosome conique à une sphère attractive avec centriole excentrique. Ils montrent en outre chez *Nina*, à côté de quatre chromosomes courts, l'existence d'un long chromosome axial qui ne se coupe qu'à la fin de l'anaphase. Ce chromosome axial en se condensant paraît donner naissance au karyosome qui, dès la reconstitution du noyau, se trouve ainsi placé à l'opposé du centrosome lequel est permanent. Cette position du karyosome par rapport au centrosome est constante et ces éléments se comportent comme s'ils se repoussaient les uns les autres.

Léger (1904) chez *Stylorhynchus* retrouve les centrioles, mais au centre du centrosome. Il distingue ensuite deux sortes de noyaux. les noyaux sexuels et les noyaux somatiques. Les premiers ont des mitoses typiques, les noyaux somatiques des mitoses très particulières où la quantité de chromatine rejetée est énorme.

Prowazek (1902) attire l'attention sur la disparition tardive de la membrane et la torsion du fuseau central et conclut que la mitose des Grégarines est intermédiaire entre la mitose des Ciliés avec plaques polaires très petites, et la mitose des Métazoaires où l'appareil cinétique (centrosome et sphère) est indépendant du noyau.

Brasil (1905 a, c) précise les données acquises sur la mitose. Il décrit avec détail le cône centrosomien surmonté du centriole et peut le mettre en relief depuis la première mitose. Les asters polaires sont constants (contre Cuénot). Quant aux chromosomes on les trouve nombreux, à l'état de grains, chez certains *Monocystis*, tandis que chez d'autres, les chromosomes peu nombreux (Brasil en figure quatre) sont bien définis.

Brasil a bien vu des noyaux dégénérant durant l'évolution du *Monocystis*, mais il se refuse à leur donner la valeur de noyaux somatiques.

Enfin Schellack (1907), chez *Echinomera*, retrouve des figures de division voisines de celles de Léger et Duboscq. Cependant il nie les centrioles et considère l'appareil centrosomien comme un „cône d'attraction“ (Brasil), surmonté d'une vésicule. Il retrouve le chromosome axial, mais montre que ce nom ne peut être conservé parce qu'en réalité ce chromosome est périphérique comme les autres dont il ne diffère que par sa longueur. Ce chromosome donne bien le nucléole dans la reconstitution du noyau et de ce rapport Schellack conclut que le chromosome axial de Léger et Duboscq doit être homologué au chromosome impair ou chromosome accessoire des spermatocytes d'Insectes et Myriapodes.

Comme on le voit, on a déjà beaucoup de données sur cette division nucléaire des Grégarines qui est très voisine de celle des Métazoaires. Toutefois il reste de nombreux points contradictoires qu'il importe d'élucider et de préciser.

On ne trouve de noyaux au repos qu'avant la première mitose et après la première crise mitotique qui doit donner au moins six noyaux. Il semble bien en effet que les divisions se poursuivent par crise pendant la première période de multiplication, la première mitose est suivie de quelques autres sans intervalle de repos, et,

après que les noyaux sont revenus au repos, tous entrent en mitose à peu près simultanément.

Nous avons décrit le premier micronoyau ou noyau de reconstitution. Il est un peu différent des noyaux qui reviennent au repos à la suite de la première crise mitotique. Chez ceux-ci (fig. 15 pl. II), il n'existe très généralement qu'un seul gros nucléole, qui nous a paru souvent plus gros chez un conjugué que dans l'autre, mais sans que nous puissions y voir un caractère certain du sexe. Le fait à souligner, déjà annoncé par Léger et Duboscq, c'est que ce gros nucléole est toujours situé à l'opposé du centrosome, tandis que les nucléoles ou karyosomes du premier noyau n'ont pas cette situation précise par rapport au centrosome. Le réseau du micronoyau ne porte, en dehors des karyosomes, que des grains peu colorables. Dans les noyaux des divisions suivantes, la chromatine a retrouvé sa colorabilité et elle est dispersée sur le réseau chromatique en grains ou en amas de grains fins très sidérophiles.

Les grandes travées du réseau sont presque toutes dirigées vers le centrosome, et, au point où elles touchent ce corps, on trouve généralement des grains chromatiques. Nous appellerons „couronne centrosomienne“ ce cercle de grains. Il y a en effet intérêt à lui donner un nom, car cette couronne de grains est très développée dans certaines mitoses de Grégarines, par exemple chez des *Actinocephalus* et dans les mitoses somatiques de *Stylorhynchus*, où Léger les a figurés en pensant que la couronne représentait à elle seule les chromosomes.

Le centrosome est un corps conique d'une substance spéciale, acidophile, et qui paraît peu différente de celle de la membrane. On le colore en bleu par la méthode de Mallory. Il s'appuie et se confond par sa base avec la membrane, et son sommet est surmonté non d'une vésicule comme le veut Schellack, mais d'un centriole. A la vérité, dans les noyaux au repos, le centriole est plus difficile à mettre en évidence que dans les noyaux en mitose. On colore toujours bien en noir, par l'hématoxyline au fer, l'apex du cône, mais souvent sous la forme d'une petite plaque et non d'une vésicule, de sorte qu'il est bien possible que le centriole ne soit pas simple mais double. Nous avons des raisons de le penser, étant donné entre autres qu'il est toujours dédoublé dès l'anaphase pendant la division.

Nous sommes donc d'accord avec Léger et Duboscq et Brasil sur la constitution du centrosome à l'état de repos, et, n'était sa forme, nous ne verrions pas d'objection à appliquer à cet appareil

le nom de centrosphère. On pourrait plutôt lui donner le nom de centrocône. Il y a intérêt en effet à distinguer cette formation conique homogène du tronc de cône de fibres qui la prolonge quand commence la division et c'est pourquoi nous n'adoptons pas le mot de cône d'attraction proposé par Brasil.

Le début de la division est indiqué, ainsi que l'ont bien vu Brasil et Schellack, par la division des centrocônes ou centrosomes, accompagnée ou même sans doute précédée de la division des centrioles. Les deux centrosomes glissent de long de la membrane en s'écartant, et pendant leur écartement, se développe le cône de fibres intranucléaires qui constituera le fuseau (fig. 16 pl. II).

Les fibres de chaque centrosome se croisent, mais ne s'unissent pas à ce moment. Il n'y a donc pas de fuseau central primaire, c'est-à-dire de fibres continues unissant les deux centrosomes, à moins qu'on n'appelle ainsi la partie de la membrane nucléaire qui les réunit.

Les centrosomes ne s'écartent jamais jusqu'à atteindre les deux pôles opposés du noyau, et il en résulte que le noyau devient asymétrique ainsi que l'a bien représenté Mrazek, avec une face presque aplatie, celle qui correspond à la région fusoriale, et une face opposée gibbeuse, correspondant à la région nucléolaire (fig. 17). La membrane disparaît assez vite dans la région fusoriale, à un stade qu'on peut appeler le spirème. Le réseau s'est alors transformé en deux ou trois longs filaments, repliés et entrecroisés, et les boucles viennent se placer à l'équateur de la figure fusoriale.

Il n'y a pas à proprement parler de chromosomes nets dans cette figure. D'abord les grains de chromatine restent distincts du filament de linine qui les supporte et il est très difficile de compter les anses. Il y en a peut-être trois, deux assez courtes et une plus longue qui se met plus tardivement au fuseau et qui reste longtemps en relation avec le nucléole ou les nucléoles qui seront rejetés (fig. 17 pl. II).

Quand la mise au fuseau est complète, ce qui correspond à la plaque équatoriale n'est pas une figure parfaitement symétrique. D'abord, une partie de la membrane qui correspond à la région nucléolaire n'est pas dissoute, mais seulement distendue, et le grand chromosome reste toujours plus excentrique que les autres. Ces derniers souvent ne peuvent plus être comptés et il semble bien qu'ils s'égrènent et se fragmentent en un grand nombre de grains. Il y a là, à ce stade, un phénomène spécial. Malheureusement, nous

n'avons pas pu établir comment se fait le passage de la métaphase à l'anaphase.

Au moment de l'anaphase, il existe un fuseau continu et une fibre plus colorable également continue et entièrement sidérophile; c'est cette fibre que Léger et Duboscq ont appelée chromosome axial et qu'on pourrait appeler avec Schellack chromosome impair. Indépendamment de ce chromosome, on voit de part et d'autre se dirigeant vers les pôles quatre chromosomes nets, c'est-à-dire assez condensés (fig. 20 pl. II). Comment s'est organisée cette figure d'anaphase que Léger et Duboscq et Schellack décrivent pareillement? Nous ne le savons pas, mais on peut penser qu'il y avait au début en réalité trois anses, deux courtes et une longue. Les deux anses courtes ont donné quatre chromosomes en se divisant et l'anse longue avec les débris de la membrane a constitué le chromosome impair.

Cette interprétation s'appuie sur de nombreuses considérations. D'abord durant l'anaphase, le fuseau en s'allongeant et s'écartant s'incurve du côté nucléolaire et en même temps se tord, ainsi que l'a vu Prowazek. Cette torsion a en même temps pour effet d'épaissir en son milieu le chromosome axial et cette partie tordue se trouve au voisinage ou au contact du nucléole rejeté (fig. 20 pl. II).

En outre, à la fin de l'anaphase, les quatre chromosomes courts s'unissent par leurs extrémités supérieures de sorte qu'ils ne forment plus que deux chromosomes en V (fig. 22 pl. II).

Or, cette mitose des Grégarines correspond à un processus de division intermédiaire entre la mitose des Ciliés et la mitose des Métazoaires. Chez les Ciliés, la membrane ne disparaît pas. Le fuseau entièrement intranucléaire ne montre de chromosomes condensés que d'une façon inconstante. C'est généralement une file de grains qui correspond à chaque chromosome. Le fuseau se tord et les deux pôles en s'écartant se trouvent longtemps unis par un filament d'union constitué à la fois par les fibres du fuseau et la membrane. On peut donc admettre que sur une face (la face nucléolaire), le fuseau se comporte comme chez les Ciliés et ainsi serait constitué le chromosome accessoire.

Quoiqu'il en soit, à la fin de l'anaphase, le chromosome accessoire se coupe, et en se condensant il formera le nucléole. Mais il n'est pas seul à le former. Voici en effet ce qui se passe dans la reconstitution des noyaux filles.

D'abord, les chromosomes en bâtonnet se soudent deux à deux en anse et les anses en s'allongeant ébauchent le réseau. Tout en

s'allongeant, les chromosomes s'égrènent par leur extrémité distale et détachent quelques karyosomes, qui s'unissent au gros karyosome provenant de la condensation du chromosome impair pour former le noyau définitif.

Nous avons ainsi indiqué les particularités de la télophase, remarquable par cette reconstitution rapide d'un gros nucléole avant que la membrane du noyau soit formée. Signalons encore qu'alors les deux centrosomes sont très écartés et entourés de fibres astériennes plus développées qu'à aucun moment. Il faut donc que ces deux centrosomes s'unissent lorsque le noyau revient complètement au repos; mais nous pensons que souvent plusieurs mitoses se succèdent sans que les centrosomes reviennent véritablement au repos. De toute manière, ainsi que Léger et Duboscq l'ont annoncé en 1903, — Schellack confirma le fait — le centrosome est permanent et ne cesse d'être visible depuis la première mitose jusqu'à la formation des gamètes.

On a vu que, chez *Nina*, il y a en plus du chromosome impair quatre chromosomes. Ce nombre paraît constant chez les Grégarines. Schellack a dressé un tableau d'où il résulte que dans les Grégarines les mieux connues (*Stylorhynchus*, *Gregarina*, *Urospora*, *Monocystis* du *Rhynchelmis*, *Nina*, *Echinomera*) on a toujours trouvé quatre chromosomes, le chromosome accessoire étant écarté. C'est bien aussi le nombre des chromosomes des *Monocystis* du Lombric, à en juger d'après les figures de Brasil et de Cuénot. Il y a donc chance que ce nombre quatre, observé si souvent, soit très général. Seules les *Aggregata* représentées par Moroff paraissent avoir huit chromosomes. Signalons cependant que Léger et Duboscq (1908), dans la schizogonie d'*Aggregata eberthi*, croient avoir observé seulement quatre chromosomes courts plus un long chromosome impair.

La principale particularité de la mitose de *Nina* est le chromosome impair, dont il s'agit de rechercher la signification. Ses rapports avec le nucléole ont déterminé Schellack à l'homologuer au chromosome impair ou chromosome accessoire des spermatocytes des Insectes et Myriapodes.

Le chromosome accessoire des Insectes a suscité des recherches nombreuses, et, justement, comme on le sait, au point de vue de la détermination du sexe. Or, nous pouvons dire que le chromosome impair des Dactylophorides se présente de la même façon dans la Grégarine mâle et dans la Grégarine femelle, qu'aucune mitose n'en est dépourvue, et qu'ils se partagent toujours également entre les

noyaux filles. Ceci montre déjà qu'il est dangereux de vouloir le comparer de trop près au chromosome accessoire qui a pour caractère de ne pas se diviser à un moment donné et de passer tout entier dans une partie des spermatides, les autres en étant dépourvus. D'autre part les rapports avec le nucléole ne sont pas les mêmes. Le chromosome impair de *Nina* n'existe pas dans le noyau au repos et le ou les nucléoles sont tous rejetés dans le cytoplasme au moment de la division. Il ne provient donc pas d'un nucléole chromatique. Seulement, il forme le nucléole à la télophase, nucléole qui sera rejeté au moment de la division suivante.

C'est là une évolution bien différente de celle du chromosome accessoire et nous en concluons qu'entre les deux formations, chromosome impair de *Nina* et chromosome accessoire des Insectes, il n'y a pas homologie complète.

Cependant il y a peut-être plus que des analogies. Ce à quoi nous paraît immédiatement homologue le chromosome impair, c'est à ce long chromosome qui ne se coupe que très tard, à la fin de l'anaphase, dans les mitoses des *Aggregata* (voir Siedlecki, Moroff, Léger et Duboscq). Un long chromosome pareil se retrouve chez certaines Coccidies et Moroff (1907) le figure avec une grande netteté chez *Adelea zonula*. Or, chez d'autres Coccidies, ce chromosome semble manquer et se trouve remplacé par le karyosome, qui au lieu d'être rejeté fonctionne comme nucléolo-centrosome. Il en est ainsi chez *Eimeria schubergi*, étudiée par Schaudinn (1900).

Ainsi, par une voie détournée, nous sommes ramenés à comparer le chromosome impair à une formation nucléolaire.

De nouvelles recherches sont encore nécessaires pour déterminer d'une façon plus précise la signification du chromosome impair.

Stade III.

Les cytoplasmes gardent respectivement leur caractère. A un faible grossissement, on reconnaîtra le cytoplasme mâle aux nombreuses balles mucoïdes qui proviennent de la régression de la plage mucoïde et qui commencent à se disperser en tous sens. Il est probable que ces balles s'unissent les unes aux autres quand elles s'accolent, car elles deviennent progressivement moins nombreuses et plus grosses. Elles sont toujours hyalines et finement vacuolisées surtout à la périphérie.

La couche corticale des grains sidérophiles disparaît entièrement dès le début du stade, mais son élimination a commencé avant l'émi-

gration des noyaux, d'où l'on en peut conclure qu'ils ne sont pour rien dans sa résorption. Puisqu'elle n'est pas un matériel de nutrition pour les noyaux, cette couche de grains doit être rejetée au dehors et en effet il ne semble pas douteux qu'elle contribue à accroître l'enveloppe du kyste, dans laquelle on voit des corpuscules sidérophiles nombreux et bien analogues (fig. 14 pl. II). Il est néanmoins probable que ce chromidium a modifié la région périphérique du cytoplasme, et, en changeant sa nature, a déterminé une action chimiotactique sur les noyaux et provoqué leur émigration vers la surface.

La caractéristique de ce troisième stade est en effet la distribution des noyaux sur toute la périphérie. L'émigration paraît se faire plus rapidement chez le mâle, peut-être parce que l'attraction est plus forte (fig. 4 pl. I). Mais finalement, dans les deux Grégarines, les noyaux ont la même distribution superficielle, ainsi que l'ont bien montré Léger et Duboscq et Schellack.

Tous sont d'abord rangés en une seule couche aussi bien dans la région du plan de séparation qu'au-dessous de la surface réellement externe. Les centrosomes annexés aux noyaux paraissent régulièrement périphériques au stade de repos, mais les divisions sont nombreuses et modifient à chaque instant cette disposition. Tout d'abord l'axe des fuseaux est parallèle au plan tangent, puis avec le progrès de la multiplication, les divisions se font dans la profondeur et il en résulte deux couches de noyaux, parfois même trois ou quatre couches dans certaines zones, en particulier au-dessous des surfaces d'accolement des deux Grégarines.

Stade IV.

C'est alors que va se dessiner le stade suivant dans lequel la Grégarine mâle ne se modifiera guère, les noyaux restant toujours périphériques, mais où la Grégarine femelle changera complètement d'aspect.

D'abord, elle s'est hypertrophiée sans qu'on puisse bien saisir le mécanisme de cet accroissement. Au lieu d'être une demi-sphère comme au stade précédent, elle s'enfonce en se renflant dans la Grégarine mâle, qui, de son côté, la couvre comme une épaisse calotte (fig. 5 pl. I). C'est à ce stade que les deux Grégarines prennent ainsi une forme très caractéristique pour chacune d'elles et qui ne changera plus jusqu'à la fin du développement.

La Grégarine mâle, en calotte épaissie, est uniformément convexe à la face supérieure, tandis que sa concavité est atténuée par une élevure centrale. Par conséquent, si la Grégarine femelle s'enfonce dans la Grégarine mâle, celle-ci à son tour déprime le sommet de la Grégarine qui la refoule. Cette disposition n'est d'ailleurs souvent accentuée qu'au stade suivant (fig. 6 pl. I), mais si elle n'est pas du tout visible sur l'image que nous donnons de ce stade (fig. 5 pl. I) c'est que la coupe n'intéresse pas le centre de la Grégarine mâle.

A part le changement de forme, la Grégarine mâle n'est guère modifiée. Les noyaux sont restés périphériques et ce n'est qu'à la face concave que se manifestent quelques légères invaginations (fig. 5 pl. I), qui parfois même sont à peine indiquées.

La Grégarine femelle au contraire n'a plus du tout la même répartition de ses noyaux. On voit apparaître en quelques points de sa région centrale quatre ou cinq amas d'un cytoplasme tout particulier que Léger et Duboscq ont comparé à de grosses sphères attractives. Ce cytoplasme de grains très fins et très denses joue, par rapport aux noyaux, le rôle des sphères attractives par rapport aux chromosomes. Tous les noyaux périphériques se disposent en fusées coniques ayant à leur sommet un de ces amas. Pour chacune de ces masses attractives on voit plusieurs cônes de noyaux (fig. 5 pl. I, et fig. 10 texte). Et ceux-ci sont d'autant plus serrés et plus nombreux qu'ils sont plus voisins de la masse. Pendant cette migration les noyaux sont revenus au repos et leur chromatine est toujours en gros grumeaux avec karyosome périphérique opposé au centrosome.

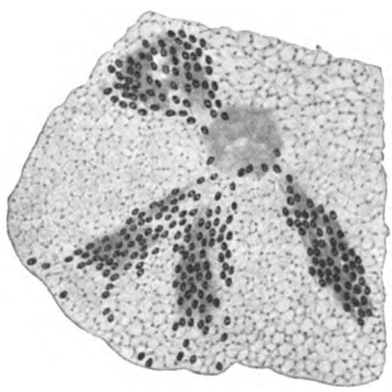


Fig. 10.
Portion de kyste (stade IV) montrant l'attraction vers l'intérieur des noyaux périphériques, dans la Grégarine femelle.

Quelle est la signification de ces masses attractives qui déterminent ainsi le cheminement des noyaux vers le centre? La structure de ce cytoplasme fait de très fins granules et sans inclusions, peut les faire comparer à l'archoplasme, sans qu'il y ait homologie véritable. Les centrosomes restent accolés à chaque noyau, et il serait abusif d'appeler centrioles les quelques grains sidérophiles

qu'on observe parmi les granules achromatiques de ces plages attractives. Pour nous, en accord avec Schellack, il s'agit là simplement d'îlots de cytoplasma germinatif. Au commencement de l'évolution, sans doute grâce à l'émigration de matière chromatique vers la surface, le cytoplasme périphérique s'était modifié, et d'alvéolaire était devenu finement granuleux et chargé de grains mitochondriaux, renfermant ainsi le matériel nutritif pour l'accroissement et la multiplication des noyaux. Ce cytoplasme périphérique a attiré vers lui les noyaux répartis dans tout le cytoplasme au stade II. Maintenant, émigrant en quelques îlots vers l'intérieur, il attire de nouveau vers lui les noyaux périphériques. Ainsi que l'a remarqué Schellack, ce cytoplasme particulier n'est pas limité aux sphérules, il fuse et se perd entre les noyaux (fig. 10 texte). Peu à peu, il va même s'étendre en les entraînant avec lui, et sa distribution en un réseau déterminera à la fois la lobulation du corps et la répartition réticulée des noyaux caractéristique du stade suivant.

Stade V.

Le cinquième stade est en effet caractérisé par une distribution des noyaux en un réseau (fig. 6 pl. I) qui parfois atteint une régularité remarquable. Ce réseau se forme simplement par l'écartement et la dispersion des traînées de noyaux à direction centrale du stade précédent. D'abord, les réseaux de noyaux ainsi obtenus forment des îlots séparés par des zones de protoplasme sans éléments chromatiques correspondant aux espaces qui séparaient les cônes de noyaux du stade précédent. Finalement ces espaces eux-mêmes sont envahis et le réseau de noyaux acquiert beaucoup plus de régularité (fig. 6 pl. I).

Quand le réseau est achevé, les rangées de noyaux sont irrégulièrement doubles, et entre ces rangs doubles, ainsi que l'a bien vu Schellack, apparaissent des fentes qui isolent des lobules dont la périphérie se trouve ainsi occupée par des noyaux. Nous n'avons pas établi d'une façon certaine comment les gamètes femelles se détachent de ces lobules. Les coupes ne le montrent pas nettement, mais tout porte à croire que cela se passe un peu comme dans les Grégarines que nous étudions plus loin, c'est-à-dire qu'il n'y a pas simple segmentation du lobule en autant d'oeufs qu'il y a de noyaux, mais que chaque gamète commence par faire saillie avant de se détacher. C'est du reste à peu près ainsi que le décrit Schellack avec cette particularité que les gamètes sont disposés par paires opposées et qu'ils se découpent sans laisser de reliquat cytoplasmique.

Il nous a été impossible d'étudier les mitoses qui précèdent le stade de la formation des oeufs, et nous le regrettons d'autant plus qu'elles nous auraient peut-être montré le phénomène de la réduction chromatique qui nous a échappé. Le matériel est d'ailleurs pour cette question aussi peu favorable que possible. Les noyaux sont devenus à la fois très petits et à chromatine très massive; ce n'est que par impression qu'on interprète les divisions comme mitoses plutôt que comme amitoses. Dès lors comment espérer pouvoir compter les chromosomes et décrire leur forme?

Stade VI.

Nous arrivons ainsi au stade de la différenciation des gamètes.

La Grégarine mâle a conservé cette forme en calotte ou en cloche recouvrant une partie de la Grégarine femelle comme au stade précédent. Son cytoplasme est devenu à la fois nettement acidophile et très clair, le réseau alvéolaire ne montrant plus de microsomes colorables par l'hématoxyline au fer. On rencontre seulement dans un certain nombre de couples quelques grosses balles homogènes, derniers restes de la plage mucoïde. Mais la méthode de Mallory démontre toujours la présence de nombreuses sphérules se colorant en bleu et dont les relations avec le paramylon restent à établir (fig. 42 pl. III).

Quant aux noyaux, ils sont restés périphériques et ils se transforment pour devenir non seulement la partie essentielle, mais la presque totalité du gamète mâle ou spermatozoïde. Arrivés au terme de leur multiplication, ils sont disposés en plusieurs couches et extrêmement nombreux. Quoiqu'il ne soit pas possible de les dénombrer, ils paraissent en plus grand nombre que les noyaux de la Grégarine femelle. Ils sont d'ailleurs un peu plus petits et par là même plus massifs. Malgré leur condensation, on peut reconnaître, à de forts grossissements qu'ils sont formés de deux corps chromatiques en croissant et étroitement accolés. On aperçoit en outre un petit corpuscule chromatique très généralement tourné vers l'extérieur de la Grégarine. Il doit être interprété comme un centrosome.

Pour former le spermatozoïde, ces éléments chromatiques s'excavent en forme de calotte, puis ils s'allongent et, quand ils se détachent, ils sont pourvus d'une queue ou flagelle.

Le détachement des spermatozoïdes correspond à peu près au moment de la fécondation et le phénomène ne doit guère durer plus d'une heure. Ainsi, bien court est le temps, pendant lequel on a

chance de rencontrer les spermatozoïdes formés et libres. Et cependant tous ne se détachent pas simultanément. Il nous a paru que ceux de la surface se détachaient les premiers, tandis que ceux de la face interne, presque au contact avec les oeufs, devenaient libres plus tard (fig. 7 pl. I). Tant qu'ils sont adhérents au reliquat, leur orientation est radiaire par rapport au centre de la Grégarine.

Le spermatozoïde devenu libre est facile à étudier soit sur le vivant, soit sur des frottis bien fixés.

Vivant, il frétille assez vivement, et malgré son mouvement on reconnaît une partie antérieure ou rostre, un corps réfringent renflé en grain d'orge, et une queue ou flagelle un peu plus longue que le corps et assez difficile à voir. Cependant on peut, avec un bon éclairage, observer qu'elle se continue sur la face ventrale du corps, c'est-à-dire sur la face concave, par une fine membrane ondulante qui paraît se prolonger jusqu'à la base du rostre.

Les préparations colorées ne nous ont pas montré cette membrane. Cependant Schellack a pu voir une formation analogue sur les spermatozoïdes *d'Echinomera*, la Grégarine du *Lithobius*. En revanche, nous reconnaîtrons mieux, sur les préparations fixées, la forme exacte et les différentes parties de l'élément mâle.

Le spermatozoïde entier mesure environ 7 μ. Le rostre qui est l'organe perforateur est légèrement incurvé ventralement. Il contient à sa base un corps chromatique qui, tantôt se montre comme un fin granule, tantôt comme un petit corps triangulaire (fig. 31 pl. II) et qui est manifestement le centrosome. Est-il le seul corpuscule représentant le centriole, ou bien ne faut-il pas interpréter aussi comme autre centriole un grain que l'on peut voir sur certaines préparations à la base de la queue (fig. 31 pl. II)? Nous serions disposés à admettre cette dernière interprétation, non pas que l'étude difficile des spermatozoïdes de *Nina* y conduise, mais parce qu'elle est d'accord avec les résultats obtenus par Léger (1904) sur un matériel plus favorable, le *Stylorhynchus*. Là, nous trouvons un rostre avec la racine du flagelle caudal venant s'insérer à sa base. Les centrioles sont doubles, l'un étant placé dans la région antérieure du noyau, l'autre en arrière. Schellack retrouve d'ailleurs la même disposition chez *Echinomera*. Le noyau du spermatozoïde se montre composé de deux éléments chromatiques, qui sont peut-être les chromosomes, puisqu'ils doivent être au nombre de deux. L'un de ces corps est antérieur et dorsal, l'autre, postérieur et ventral, et ils laissent entre eux du côté ventral un espace clair ou une vacuole. Ils paraissent plus ou moins étirés selon la qualité de la

fixation, car il ne faut pas oublier que ces gamètes mâles sont très altérables. On voit que ces deux corps chromatiques constituent à eux seuls le corps du gamète, l'enveloppe cytoplasmique étant très réduite. La queue ou flagelle qui les prolonge est une fois et demie de la longueur du corps. Elle est d'une épaisseur constante jusqu'à l'extrémité, ce qui la fait paraître tronquée.

Les oeufs, lorsqu'ils viennent d'être libérés, n'ont pas la forme régulièrement cylindrique qu'ils prendront après la fécondation. Les uns ont sans doute déjà presque cet aspect, mais en général ils sont plus ovoïdes, avec l'extrémité contenant le noyau plus pointue que l'extrémité opposée. On en trouve même qui sont un peu courbés latéralement, c'est-à-dire déformés par la pression d'autres oeufs; car ils n'ont pas de membrane bien différenciée à ce stade et ne présentent aucune résistance.

Ils mesurent de 9 à 10 μ de long sur 4 μ de large. Leur noyau, situé à une extrémité que nous appellerons pôle antérieur, est fait comme le noyau des spermatides. Il se compose de plusieurs éléments chromatiques accolés en un corps massif à peu près arrondi et surmontés d'un corpuscule colorable en forme de grain ou de petite plaque ou même de petit cône surbaissé, manifestement le centrosome (fig. 33, 34 pl. II). Le cytoplasme est vacuolaire. Il montre quelques mailles régulières dont la trame est faite de microsomes très fins parmi lesquels se trouvent çà et là quelques sphérules sidérophiles. Les alvéoles sont occupés par des sphèrules qui paraissent être du paramylon peu transformé et dont le diamètre, qui mesure environ 2 μ 5, est peu variable, sauf peut-être dans les oeufs récemment formés où on en observe de plus grosses occupant tout le diamètre de l'oeuf.

Léger et Duboscq (1903) ont observé ce qu'ils ont appelé une réduction cytoplasmique. L'oeuf avant fécondation expulserait par le pôle opposé au noyau une certaine quantité de cytoplasme sous la forme d'un globule qui se pédiculise et se détache. Schellack a observé le même phénomène soit dans l'eau salée physiologique, soit en fixant avec une petite goutte d'acide osmique, mais il a fait remarquer que sur les coupes bien fixées on ne rencontrait jamais cette expulsion et il en conclut que l'oeuf présente au pôle opposé au noyau un point de moindre résistance correspondant au point où il était attaché à un congénère. Conséquemment, la moindre augmentation de pression interne par absorption de liquide doit provoquer cette hernie cytoplasmique. Nous avons remarqué en effet comme Schellack que sur les coupes de kystes entiers, nous ne con-

stations pas le phénomène, et qu'il était seulement visible sur le vivant ou sur les frottis. On est dès lors autorisé à l'interpréter comme un artefact, bien que chez d'autres Protistes, on connaisse ce rejet de cytoplasme représentant une épuration, par exemple chez *Trypanosoma noctuae* (Schaudinn 1904).

Quant à la réduction chromatique, malgré la conviction qu'elle devait exister, nous n'avons pu en trouver trace. Il est vrai que le matériel ne permet pas d'étudier les dernières mitoses à la suite desquelles sont formés les oeufs, et c'est là et non sur l'oeuf isolé qu'il faut sans doute rechercher le phénomène de la réduction.

Stade VII.

Fécondation. Les spermatozoïdes devenus libres se mêlent aux oeufs pour les féconder. Il est très facile de rencontrer les spermatozoïdes attachés aux oeufs et il faut noter que pour chaque oeuf on n'en trouve jamais qu'un (fig. 33, 34 pl. II). Donc aucune tentative de polyspermie, et le fait mérite d'autant plus d'être souligné que le spermatozoïde paraît ramper quelque temps sur l'oeuf avant de le féconder, et qu'après la fécondation celui-ci conserve longtemps une membrane très mince.

En étudiant le mode de pénétration du spermatozoïde, nous avons observé un certain nombre de cas embarrassants où le spermatozoïde semblait piqué sur l'oeuf par la queue. Qu'il pénètre ainsi dans la cellule, cela parait possible si on le compare aux Flagellés comme les *Cercomonadines* qui se fixent ainsi aux cellules. Mais quelle serait la signification du rostre, et d'ailleurs comment admettre que chez *Nina* cela ne se passe pas comme chez les autres Grégarines? Nous pensons donc que le spermatozoïde pénètre toujours par son rostre. En général, la pénétration paraît se faire au pôle nucléé de l'oeuf, mais nous avons vu un cas où le spermatozoïde qui venait de pénétrer était placé au centre de l'oeuf; dans un autre, il semblait chercher à pénétrer par le pôle postérieur. Néanmoins la règle parait être la pénétration au pôle antérieur et le spermatozoïde vient d'emblée, en se contractant, s'accoler au noyau de l'oeuf.

Les éléments chromatiques des gamètes sont si massifs qu'il est difficile de dire ce que deviennent les centrioles dans la fécondation. Ce n'est d'ailleurs déjà pas chose facile de reconnaître l'oeuf qui vient d'être fécondé de l'oeuf avant la fécondation (fig. 35 pl. II), et on peut en juger par nos figures où cependant nous avons représenté les cas les plus nets. Cependant, après la fécondation, le noyau se

réorganise et quand la réorganisation est complète, on ne peut se tromper sur la signification de ce noyau plus gros, assez régulièrement sphérique et composé de nombreux grains chromatiques et d'un karyosome (fig. 36 pl. II). Pendant tout le temps que s'organise le noyau de la copula et qu'il se prépare à la division, l'oeuf prend une forme régulièrement cylindrique qui sera exactement celle du sporocyste mûr, mais la membrane d'enveloppe reste encore très mince et ne s'épaissira notablement qu'au moment du stade à quatre noyaux.

Les oeufs étant fécondés, nous arrivons ainsi au dernier stade de l'évolution.

Stade VIII.

La Grégarine mâle est réduite à un reliquat formé de tout le cytoplasme inutilisé et qui n'a guère changé de structure. A la surface s'est développée une membrane à double contour (fig. 8 pl. I), mais elle était déjà d'épaisseur notable avant la formation des spermatozoïdes et c'est encore là un caractère qui distingue la Grégarine mâle de la Grégarine femelle durant toute la fin de l'évolution. Il faut conclure à ce propos que, malgré son développement, elle doit être facilement traversée par les spermatozoïdes. Si elle apparaît si nettement après la fécondation, c'est moins parce qu'elle s'épaissit que parce qu'elle change de nature, sans doute à la suite d'un processus analogue à la chitinisation. Contigus à cette membrane se trouvent çà et là quelques corpuscules chromatiques, qui sont les restes de noyaux mâles. Les uns ont dégénéré avant d'évoluer en spermatozoïdes, d'autres ont eu une évolution trop tardive.

La Grégarine femelle reste entourée d'une membrane mince et n'est plus représentée que par une grande quantité de sporocystes en formation sans aucune trace de reliquat. Signalons seulement qu'on trouve, accolés à sa membrane, un grand nombre de corpuscules chromatiques où l'on reconnaît facilement les restes de spermatozoïdes inutilisés. Ils ont la même taille, la même chromaticité et la même forme que les spermatozoides avortés qu'on trouve dans le reliquat mâle, mais ils sont beaucoup plus nombreux, et comme la suite de l'évolution prouve que tous les oeufs sont fécondés, on en peut conclure que les spermatozoïdes sont plus nombreux que les oeufs. D'après nos calculs, un tiers des spermatozoïdes environ sont inutilisés.

Evolution de l'oeuf fécondé. — Tous les oeufs sont fécondés puisque tous, ou à peu près, évoluent pour donner les sporocystes. L'évolution en est connue et se passe comme chez la plupart

des Grégarines. Les deux premières divisions du noyau se succèdent sans intervalle de repos. Le synkaryon a son centrosome apical. La division est annoncée par la division préalable du centrosome et quoiqu'on ne puisse l'étudier en détail, on reconnaît que c'est une mitose avec un long chromosome d'union. L'axe de la première division fait un angle aigu avec le grand axe de la copula, orientation constante dont la raison doit être cherchée dans le mode d'écartement des centrosomes qui, dans les mitoses de Grégarines, ne s'écartent jamais de 180°. Or nous venons de dire que le centrosome non divisé est placé au pôle supérieur. L'axe qui relie les centrosomes divisés ne peut donc pas coïncider avec l'axe de l'oeuf.

La deuxième division n'est pas toujours synchrone, et l'on observe des stades à trois noyaux. Le plus communément cependant on trouve les deux premiers noyaux se divisant en même temps, avec des axes de division parallèles (fig. 3 pl. II).

Les quatre noyaux ainsi obtenus sont placés deux vers le centre, les deux autres à chaque pôle. Ils reviennent au repos pendant un temps notable et l'on trouve facilement des kystes où tous les sporocystes en évolution ont quatre noyaux. C'est en effet pendant ce stade que se forme l'épaisse endospore, et que se développe l'épaississement polaire, en forme de lentille, déjà annoncé dans la copula à un noyau par une plaque mince colorable. Cet épaississement lenticulaire correspond au pôle postérieur — en appelant toujours pôle antérieur le pôle nucléé — par conséquent au point où se faisait la pseudo-réduction cytoplasmique.

Enfin une division ultérieure de chaque noyau aboutit à la formation des huit noyaux des sporozoïtes.

Comment se fait le partage du cytoplasme entre ces huit noyaux, c'est-à-dire comment se développent les sporozoïtes? Nous ne pouvons le dire. Tout ce qu'on peut voir, c'est que les huit noyaux sont d'abord sphériques, et groupés par quatre à chaque pôle, puis ils prennent la forme d'un ellipsoïde allongé en gardant la même position (fig. 39 pl. II). Enfin ils s'allongent encore, ne se colorant plus que massivement et, tout en restant parallèles au grand axe du sporocyste, ils glissent les uns sur les autres et s'étagent sans ordre apparent. Les sporozoïtes sont dès lors formés et disposés autour d'un reliquat sphérique à l'intérieur du sporocyste. Léger et Duboscq (1902) ont établi que les sporozoïtes mesurent 10 à 11 μ, par conséquent qu'ils sont plus longs que le sporocyste. Par là même, ils doivent être repliés sur eux-mêmes dans le sporocyste, et sans doute contournés en spirale.

La déhiscence du kyste mûr s'effectue selon la manière déjà décrite par Léger (1896) pour *Rhopalonia*, et par Léger et Duboscq (1902) pour *Nina*. Le reliquat mâle appelé d'abord „pseudo kyste latéral" par Léger, se gonfle. Et comme un gaz s'est développé à son intérieur, il peut se produire un éclatement brutal qui lance les sporocystes à une grande distance.

Pathologie des kystes.

Nous n'avons pas cru devoir indiquer la technique à suivre pour élever les kystes et les conduire à bien, c'est-à-dire à la formation des spores. Il suffit de les tenir en milieu humide sur un support très propre comme une baguette de fusain ou une lamelle de verre. Cependant il arrivera, malgré toutes les précautions, que certains kystes seront envahis par les moisissures (Mucorinées?), avant d'avoir terminé leur développement. Nous avons plusieurs fois rencontré sur des coupes de kystes le début de l'envahissement par le champignon, et constaté un fait intéressant. Le parasite, qui se présente en un mycelium ramifié, sans cloisons, n'attaque d'abord qu'une seule Grégarine. C'est toujours l'individu mâle qui est envahi le premier et il est souvent farci de champignons avant que l'individu femelle ne soit attaqué (fig. 43 pl. III). Ceci est d'autant plus curieux que la Grégarine mâle est de bonne heure protégée par une membrane épaisse alors que la Grégarine femelle conserve une membrane mince durant toute son évolution. De plus, la Grégarine mâle a ses noyaux périphériques qui devraient la protéger en tant qu'élément bien vivant capable, à priori, de sécréter des matières de défense. Mais c'est peut-être là justement qu'il faut chercher la cause de la vulnérabilité de la Grégarine mâle. Le cytoplasme mâle doit être de bonne heure un reliquat, un amas de matière nutritive sans vitalité propre, tandis que le cytoplasme femelle est infiltré de toute cette substance active que nous avons appelé le cytoplasme germinatif et qui est peut-être capable de se défendre contre la pénétration des parasites. Nous donnons l'explication pour ce qu'elle vaut, sans en être pleinement satisfait, puisque la Grégarine femelle finit toujours par être envahie et n'achève pas son évolution. Nous croyons cependant que si l'attaque par les champignons était très tardive, la fécondation serait possible, car les noyaux mâles ne dégénèrent que longtemps après la pénétration des champignons dans le reliquat.

Il est bien connu que des deux individus enkystés l'un peut dégénérer, et Siedlecki (1899) a montré que l'individu survivant

pouvait former des gamètes, mais que ceux-ci n'entraient pas en activité. Il serait intéressant de savoir si, dans ce cas, il s'agit d'une attaque par des parasites et si l'individu qui périt n'est pas toujours le mâle.

En dehors de l'attaque par les Moisissures qui ne se produit qu'à un stade avancé du développement, nous avons observé deux fois une maladie des kystes, dont nous ne savons pas la cause, et qui doit frapper les Grégarines dès le début de l'enkystement. Nous pouvons l'appeler maladie des kystes rouges.

Les deux Scolopendres qui nous fournissaient ces kystes avaient été prises dans la même région. Elles ne paraissaient pas héberger d'autres parasites que les *Nina* qui étaient, il est vrai, extraordinairement abondants. Les sporadins s'enkystaient solitairement, c'est-à-dire s'arrondissaient sans former d'enveloppe kystique, puis dégénéraient et devenaient rouges.

Tous les kystes rejetés dans les excréments de ces Scolopendres, étaient ainsi transformés en une substance hyaline rouge, creusée de quelques grosses vacuoles. Ils gardaient leur couleur sous l'action de l'acide osmique. Nous n'avons pu suivre minutieusement la dégénérescence de ces kystes.

III. Evolution sexuée chez les *Actinocéphalides* s. lat.

(Avec la pl. IV.)

On ne sait actuellement rien sur la reproduction sexuée des *Actinocéphalides* s. str., non plus que sur celle des *Acanthosporides* caractérisées comme on le sait par leurs sporocystes biconiques épineux, et pas davantage sur celle des *Ménosporides* qui possèdent des sporocystes en croissant si singuliers et si caractéristiques. C'est-à-dire que les phénomènes de sexualité dans le groupe des *Actinocéphalides* sens. lat., tel que nous l'avons défini au début de ce travail, sont encore complètement inconnus. Nous avons cherché à combler cette lacune dans la mesure du possible, en étudiant la reproduction sexuelle chez les types les plus caractéristiques de cette grande famille, types définis d'une part et surtout par la forme des sporocystes, d'autre part par celle de l'appareil de fixation ou épimérite.

Dans les différents genres qui composent les groupes précités, on peut distinguer quatre formes bien caractéristiques de sporocystes:

A. le sporocyste biconique typique (fig. 101 pl. IV) qui caractérise les Actinocéphalides proprement dits (s. str.) et qui est l'apanage des genres *Actinocephalus*, *Phialoïdes*, *Pileocephalus* *Schneideria* etc.

B. le sporocyste ovoïde biconique (fig. 87 pl. IV) qui caractérise le genre *Geneiorhynchus.*

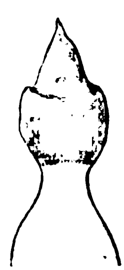
C. le sporocyste biconique épineux (fig. 115 pl. IV) qui caractérise la sous-famille des *Acanthosporides*, c'est-à-dire les genres *Ancyrophora, Acanthospora, Pogonites* etc.

D. le sporocyste en croissant (fig. 76 pl. IV) propre à la sous-famille des *Ménosporides* renfermant les genres *Hoplorhynchus* et *Menospora.*

Nos recherches ont porté sur des genres dont les copula aboutissent aux quatre formes fondamentales de sporocystes que nous venons d'énumérer et même, lorsque deux ou plusieurs genres possédant des sporocystes de même forme avaient des épimérites très différents, nous avons étudié comparativement, chez chacun d'eux, le processus sexué.

C'est ainsi que pour les Actinocéphalides s. str. nous avons étudié les phénomènes sexuels: dans le genre *Actinocephalus*, caractérisé par un épimérite en forme de tête aplatie garnie d'une couronne de crochets (fig. 11 texte); dans le genre *Pileocephalus* à épimérite en forme de simple tête conique sans aucun appendice (fig. 12 texte); enfin dans le genre *Phialoïdes* dont l'épimérite en forme de collerette plissée entourée d'un bourrelet festonné est si compliqué (fig. 13 texte).


Fig. 11.


Fig. 12.

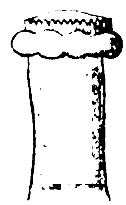

Fig. 13.

Fig. 11. Epimérite d'*Actinocephalus* sp. du Lithobius.
Fig. 12. Epimérite de *Pileocephalus heeri.*
Fig. 13. Epimérite de *Phialoïdes.*

Ces trois genres ont, comme on le voit, un appareil fixateur extrêmement différent, tout en possédant des sporocystes à peu près de même forme. Il devenait par cela même utile de rechercher si le processus sexuel variait chez ces êtres comme la morphologie de l'adulte.

De même, nous avons suivi le processus sexué dans le genre *Geneiorhynchus*, qui parait tout d'abord assez éloigné des Actinocéphalides typiques par son épimérite en tête garnie de piquants (fig. 14 texte) et par la forme si spéciale de ses sporocystes munis de petits tubes polaires (fig. 85 à 87 pl. V).

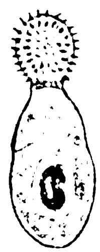


Fig. 14.
Epimérite de *Geneiorhynchus*.

Dans la sous-famille des Acanthosporides, nous avons étudié la fécondation chez les *Ancyrophora* qui possèdent des sporocystes épineux très caractéristiques et dont il était intéressant de rechercher l'origine aux dépens de la copula.

Enfin chez les Ménosporides, nous avons pris comme type d'étude le genre *Hoplorhynchus* pour rechercher quelles sont les transformations morphologiques qui conduisent la copula au sporocyste en croissant.

Nous étudions donc ici successivement les éléments sexuels et la sporogonie chez ces différents types. Un des principaux résultats de cette étude, que nous pouvons énoncer dès maintenant, c'est que dans tous ces Actinocéphalides (sens. lat.), et quelque différents que soient les sporocystes et les épimérites, les éléments sexuels et la copulation sont, à quelques détails près, identiques. Chez tous existe une anisogamie assez prononcée; chez tous, la copula passe par une stade sphérique avant de prendre la forme définitive qui caractérise la sporocyste.

Cette uniformité du processus sexué chez les divers types nous permettra de n'étudier en détail qu'une des espèces les plus caractéristiques comme les *Hoplorhynchus*. Nous n'aurons plus qu'à suivre ensuite brièvement le phénomène chez les autres formes en insistant seulement sur les particularités qu'elles présentent.

Hoplorhynchus oligacanthus (Sieb).

Cette Grégarine signalée par Siebold dès 1839 a été décrite avec quelques détails par A. Schneider (1875). Malheureusement cet auteur, ayant mal étiqueté ses préparations, a attribué au genre *Hoplorhynchus* les sporocystes biconiques qui appartenaient aux *Pileo-*

cephalus et inversement aux *Pileocephalus* les sporocystes en croissant des *Hoplorhynchus.*

LÉGER (1892) a ultérieurement donné les caractères respectifs des sporocystes de ces deux genres et rappelé que les *Pileocephalus* ont les sporocystes biconiques typiques des Actinocéphalides et les *Hoplorhynchus* ainsi que les *Menospora* des sporocystes en croissant. Ces deux derniers genres constituent ainsi notre sous-famille des Ménosporides, parasites des larves d'Agrionides ou de Caloptérygides.

L'*Hoplorhynchus* est une Grégarine polycystidée de forme allongée, lancéolée, munie d'un épimérite avec long col et tête aplatie garnie de dents triangulaires (SCHNEIDER indique 6 à 8 dents, nous en avons trouvé seulement 5 chez les céphalins que nous avons examinés). Le noyau est ovoïde. Les kystes sont sphériques, blanc mat; tous ceux que nous avons recueillis renfermaient deux individus.

Nous avons suivi la reproduction sexuée sur le vivant et en même temps sur des préparations fixées aux diverses phases du processus, selon la technique employée par LÉGER (1904) pour ses recherches sur *Stylorhynchus*, complétée par l'observation de coupes de kystes à différents stades.

Le kyste fraichement évacué montre chacun des individus occupant un hémisphère. Les deux conjoints sont par conséquent de même taille ou à peu près, mais leur aspect diffère quelque peu sur le vivant: l'un, plus densément granuleux, est plus sombre que l'autre.

Les diverses phases du processus sexué suivies sur le vivant, rappellent assez l'évolution de *Stylorhynchus* pour qu'il suffise de renvoyer au mémoire de LÉGER (1904) le lecteur qui voudrait en connaître les détails.

Dans chaque Grégarine le soma se découpe en lobes et lobules à la surface desquels les noyaux sexuels viennent faire saillie soulevant autour d'eux une éminence de protoplasme clair. C'est le stade de perlage ou de gamètes globuleux indifférenciés et encore attachés au soma qui leur a donné naissance.

En suivant la gamétogenèse sur des coupes de kystes, on remarque:

1° que les cytoplasmes des deux Grégarines accouplées montrent des caractères cytologiques assez différents (fig. 78 pl. IV), celui de la Grégarine mâle est plus colorable, et à mailles un peu plus serrées que celui de la Grégarine femelle. En outre, au cours de la lobulation somatique, il se découpe plus vite et par des incisures plus flexueuses que celui de la femelle.

2° que les noyaux deviennent rapidement de deux sortes: les uns peu nombreux, plus volumineux avec un gros nucléole et un suc nucléaire clair, restent dans la profondeur des lobes cytoplasmiques, ce sont les noyaux somatiques qui vont continuer à se diviser lentement, d'abord par mitoses, puis par amitoses avec traces de figures astériennes (*N* fig. 78 pl. IV), mais sans aboutir à la formation de gamètes; les autres plus petits, bientôt superficiels, à suc nucléaire plus coloré, avec un ou deux petits nucléoles et de la chromatine périphérique disposée en grains et en bâtonnets. Ce sont les noyaux sexuels qui se multiplient activement à la surface des lobes somatiques par des mitoses typiques, à fuseau court, à plaque équatoriale très dense et centrosomes bien nets (*n* fig. 78 pl. IV).

Au repos ces noyaux montrent en un point de leur surface une petite baguette conique à direction radiale, représentant pour nous l'appareil centrosomien dont le sommet est occupé par le centrosome.

C'est là un caractère qui est général chez tous les Actinocéphalides et chez les Clepsidrinides comme on le verra plus loin.

Sur l'origine de ces noyaux aux dépens du gros noyau primitif des Grégarines accouplées, nous ne pouvons malheureusement aujourd'hui apporter de documents nouveaux, car le matériel d'étude du premier fuseau, toujours difficile à se procurer chez les Actinocéphalides, nous a fait défaut. Tout ce que nous pouvons dire c'est que, de l'observation des stades de début avec un très petit nombre de noyaux, nous sommes convaincus que ceux-ci dérivent par mitoses successives d'un premier fuseau formé aux dépens d'une partie de la chromatine primitive, comme c'est, à notre avis, une règle générale chez les Grégarines.

Laissant donc de côté pour le moment cette question du premier fuseau chez tous les Actinocéphalides, nous consacrons plus spécialement notre étude à la gamétogenèse, la copulation et la transformation de la copula en sporocyste.

Au terme de la multiplication nucléaire, le corps grégarinien est divisé en lobes de tailles variées, massifs chez la femelle (*f, f* fig 77 pl. IV), le plus souvent flexueux chez le mâle (*m, m* fig. 77 pl. IV), à la surface desquels font saillie les gamètes encore indifférenciés. La différenciation sexuelle se manifeste alors par ce fait que, à la surface des lobes mâles, les éléments sexuels s'étirent et deviennent piriformes en même temps que leur extrémité distale où se porte toujours le noyau, émet un prolongement en forme de trompe, très long et très grêle, homologue du rostre des gamètes mâles de

Stylorhynchus et formé croyons-nous, comme lui, aux dépens de la centrosphère (fig. 47 pl. IV).

Les gamètes mâles une fois différenciés restent encore quelque temps attachés au reliquat somatique qui leur a donné naissance et forment des sortes de grappes qui se dissocient peu à peu au fur et à mesure de leur mise en liberté, en laissant des boules ou boudins cytoplasmiques résiduels renfermant de nombreux noyaux de reliquat (fig. 79 et 80 pl. IV).

Les gamètes mâles ou spermatozoïdes se montrent sur le vivant, après leur mise en liberté, comme des éléments piriformes ou globuleux munis d'un long fouet. Le rostre antérieur s'est peu à peu rétracté (fig. 48 et 49 pl. IV) et n'est plus représenté que par un petit prolongement très mobile.

Au-dessous du rostre se voit sur le vivant un espace clair qui correspond au noyau entouré d'une zone de cytoplasme hyalin sans inclusion, puis tout le reste du corps est chargé de sphérules de paramylon, entre lesquelles se voient de rares petits grains sombres (grains d'excrétion) (fig. 117 et 118 pl. IV). Ces éléments présentent dès leur mise en liberté des mouvements très vifs dus surtout à l'activité de leur flagellum car, sauf dans la région du rostre, le corps lui-même, contrairement à ce qui s'observe chez *Stylorhynchus*, ne présente que peu de mouvements propres. Dans ces mouvements, les spermatozoïdes semblent tourner rapidement autour de leur grand axe, osciller ou se déplacer in toto selon le mode d'action de leur fouet.

Ces mouvements les amènent au contact des gamètes femelles ou oeufs qui se détachent de leurs lobes somatiques, quelques instants après, sous la forme d'éléments d'abord ovoïdes, puis sphériques (fig. 119 pl. IV).

Les lobes de la Grégarine femelle, qui donnent naissance aux oeufs, sont toujours moins découpés que les lobes mâles, et le plus souvent, au lieu de former les gamètes par gemmation, ils se dissocient successivement en lobes de plus en plus petits comprenant de moins en moins de noyaux et aboutissant finalement à des stades à quatre, puis deux, puis un seul noyau (*f*, *f* fig. 77 pl. IV). Dans des frottis il faut bien se garder de confondre de tels stades à deux noyaux avec des copula récentes. D'où la nécessité, pour une interprétation rigoureuse, de suivre attentivement in vivo le kyste jusqu'au moment précis où l'on fixe son contenu, afin d'être certain du stade que l'on se propose d'étudier dans une préparation.

Comme les spermatozoïdes, les oeufs montrent un noyau superficiel, entouré d'une zone de cytoplasme clair et surmonté d'un petit prolongement rostral, mais toujours très court et à peine visible après leur mise en liberté. Le reste du cytoplasme est également chargé de gros grains de réserve et de quelques petits grains sombres d'excrétion (fig. 51 et 52 pl. IV).

Au point de vue cytologique, les deux sortes d'éléments sexuels se ressemblent beaucoup. Leur cytoplasme est le même et le noyau est seulement un peu plus grand chez les oeufs que chez les spermatozoïdes. Ce noyau, à contour circulaire, montre sur une paroi faiblement colorable quatre corps chromatiques très nets assez régulièrement espacés. Le suc nucléaire est clair et renferme vers son milieu un karyosome sphérique un peu plus gros chez les femelles que chez les mâles (comparer fig. 50 et 52 pl. IV).

Le cytoplasme assez fortement colorable laisse incolore les espaces occupés par les grains de réserve, de sorte que, sur des préparations colorées au fer, il se montre comme un réseau à mailles claires. Cette structure cytoplasmique est commune à tous les gamètes d'Actinocéphalides (fig. 50, 93, 106 pl. IV), les dimensions des alvéoles variant toutefois avec les espèces suivant la taille des grains de réserve.

Chez *Hoplorhynchus*, la colorabilité du réseau cytoplasmique empêche de préciser la structure du fouet dans les spermatozoïdes: mais, chez *Phialoïdes* (fig. 93 pl. IV), où le cytoplasme est plus clair, on voit nettement que le fouet se prolonge par une racine axile intracytoplasmique, qui aboutit à un grain géminé situé contre le noyau. Cette disposition, ainsi que les rapports que présente le rostre dont la partie basilaire dilatée est enchassée dans le noyau, nous porte à admettre pour tous ces gamètes d'Actinocéphalides une structure voisine de celle que Léger a établie pour ceux des *Stylorhynchus*.

Chez *Hoplorhynchus*, les dimensions des gamètes sur des préparations fixées sont les suivantes:

Spermatozoïdes mûrs: longueur du corps 6 μ 40; largeur 3 μ 70; longueur de la queue 12 à 15 μ; oeufs mûrs: diamètre 3 μ 20 à 3 μ 50.

Sur le vivant ces dimensions sont légèrement accrues.

Par une température de 18 à 20°, les gamètes commencent à être mis en liberté environ 24 heures après l'évacuation des kystes. On les aperçoit par transparence à l'intérieur du kyste, et, dans

certaines conditions d'éclairage direct et oblique, on peut les voir se détacher des lobes somatiques, présenter d'abord des mouvements d'oscillation, puis devenir libres. Les éléments mâles ordinairement libérés les premiers se glissent entre les oeufs en pirouettant ou tournant assez rapidement sur eux-mêmes. Leur forme à l'intérieur du kyste paraît presque globuleuse et il n'est pas possible, dans ces conditions d'observation, de les distinguer morphologiquement des femelles. Les mouvements se précipitent, les gamètes semblent former des chaines qui glissent les unes entre les autres comme entrainées chacune par un courant propre et dans une direction particulière. Au bout d'une heure, la mêlée devient plus générale et agitée, les éléments mâles sont de plus en plus actifs et un quart d'heure plus tard commencent les copulations.

Celles-ci s'effectuent suivant le type *Stylorhynchus*, c'est-à-dire que les deux éléments mâle et femelle s'accolent assez brusquement et fusionnent peu à peu leur cytoplasme. Il en résulte des copula caudées (fig. 53 pl. IV), qui sont encore pendant quelque temps animées de mouvements (fig. 120 pl. IV), mais qui deviennent rapidement immobiles et piriformes par atrophie prompte et progressive du fouet (fig. 54, 55, 56 pl. IV).

L'ensemble du phénomène de la mêlée sexuelle depuis le commencement de la „danse des sporoblastes" jusqu'au début des copulations dure environ deux heures. On voit que dans le groupe des Actinocéphalides la période de mobilité des gamètes est de courte durée ce qui en rend l'étude d'autant plus difficile; il n'y a point là en effet de nombreux éléments mâles stériles qui restent à s'agiter dans le copularium après que les copulations sont effectuées. Chez *Stylorhynchus* où ces éléments existent nombreux, Léger a montré qu'ils prolongent la „danse" pendant plus de douze heures, bien que les copulations s'effectuent aussi vite qu'ici. Chez les Actinocéphalides, il reste néanmoins quelques gamètes sans doute trop tardivement formés, se présentant sous forme de boules flagellées (fig. 121 pl. IV) ou non et qui restent inutilisés, mais ils ne tardent pas à s'immobiliser et à dégénérer.

Nous avons suivi in vivo, comme chez *Hoplorhynchus,* le phénomène de la danse chez tous les autres Actinocéphalides que nous étudions dans ce travail. Il nous a paru qu'il se passe du reste de la même façon dans toutes ces formes, mais c'est surtout chez *Geneiorhynchus,* où les kystes sont relativement transparents, que nous avons pu observer les détails avec plus de précision.

Après que tout mouvement a cessé dans le kyste, les copula ont

pris une forme sphérique, (fig. 57 à 60 pl. IV) et montrent les deux noyaux sexuels souvent encore assez distants l'un de l'autre. L'un, le noyau mâle, est un peu plus petit que le noyau femelle, mais tous les deux laissent voir assez distinctement leurs quatre corpuscules chromatiques et, plus difficilement, sur le côté extérieur de la membrane nucléaire, un grain coloré qui est sans doute le centrosome. Certaines copula présentent en outre dans le cytoplasme un grain chromatique qui semble émis par le noyau femelle (fig. 60 pl. IV) mais ce fait est loin d'être constant. Le diamètre des copula sphériques est d'environ 5 μ.

Les deux noyaux se rapprochent ensuite peu à peu et se fusionnent (fig. 58 à 62 pl. IV); les deux karyosomes également (fig. 63 et 64 pl. IV) et, comme au stade de copula à synkaryon il n'y a plus qu'un centrosome visible sur la paroi nucléaire, on peut en conclure que les centrosomes se sont également fusionnés.

Nous sommes ainsi arrivés au stade de copula sphérique avec un seul noyau de conjugaison (fig. 64 pl. IV). Ce stade est atteint environ deux heures après la fin de la mêlée sexuelle.

Le noyau de conjugaison d'abord ovalaire au moment de la fusion (fig. 62 pl. IV) devient promptement sphérique et montre maintenant huit corps chromatiques avec un seul gros karyosome (fig. 64 pl. IV).

La copula va maintenant changer de forme. Elle s'allonge, devient ovoïde (fig. 65 pl. IV), puis piriforme (fig. 66 pl. IV) (Notons en passant que parfois la fusion des noyaux ne s'effectue complètement qu'à ce stade (fig. 66 et 67 pl. IV), puis arquée par prédominence du développement d'une face (fig. 67 pl. IV). Sous cette forme elle atteint déjà 10 μ de long.

Par le progrès de la courbure et de l'allongement, elle atteint la forme en croissant définitive, bien caractéristique des spores de *Ménosporides* (fig. 68, 69, 70 pl. IV). Des coupes de kyste à ce stade ont un aspect très particulier avec leurs innombrables éléments uninucléés en croissant qui représentent les jeunes sporocystes encore dépourvus de paroi. Un observateur non prévenu pourrait être surpris par cette curieuse convergence morphologique et prendrait volontiers ces kystes pour des schizontes, les corps en croissant mononucléés paraissant des schizozoïtes (fig. 122 pl. IV). C'est à ce moment seulement que commence la première mitose du synkaryon qui donne deux noyaux-fils, lesquels s'éloignent vers les extrémités du sporocyste (fig. 73 et 74 pl. IV). Puis les deux noyaux se divisent à leur tour toujours par mitose et donnent quatre noyaux qui, écartés

d'abord (fig. 75 pl. IV), se rapprochent ensuite vers le milieu (fig. 76 pl. IV). Ils se montrent alors sphériques avec un petit nucléole central. Après une courte phase de repos, ils doivent subir une deuxième division pour donner les huit noyaux des sporozoïtes. La paroi sporale, qui s'épaissit pendant le stade de repos, empêche les colorations qui permettraient d'observer la dernière division. Cette paroi commence d'apparaître seulement au moment de la première mitose, c'est-à-dire lorsque la copula a atteint sa forme définitive. Au stade à deux noyaux, elle n'est encore que faiblement développée, mais sa présence gêne déja notablement la coloration.

On trouve assez fréquement dans les kystes mûrs des sporocystes en forme d'Y, c'est-à-dire à trois branches. Ils dérivent de copula qui prennent de bonne heure la forme triangulaire (fig. 71) puis en étoile à trois branches (fig. 72 pl. IV). Proviennent-elles d'une copulation à 3 gamètes ou bien résultent-elles d'un allongement suivant deux directions divergentes par deux sommets de croissance? Leur noyau ordinairement plus gros que celui des copulas normales, nous fait pencher pour la première hypothèse.

Lorsque les sporocystes sont formés, le reliquat somatique des deux Grégarines enkystées se retrouve dans le kyste sous forme de boules et de boudins de forme et de taille variées, renfermant un cytoplasme très clair avec de nombreux noyaux inutilisés, souvent disposés en file pressées (fig. 79, 80 pl. IV). La plupart de ces noyaux ont comme ceux des gamètes, quatre corpuscules chromatiques; mais certains, plus gros en ont huit (fig. 79 pl. IV), peut-être parce qu'ils correspondent à des noyaux somatiques.

Ces corps de reliquat renferment en outre une quantité considérable de petits cristaux qui sont, croyons-nous, des produits d'excrétion de la Grégarine, produits qui étaient, au début du processus, épars au sein du cytoplasme et qui se trouvent ainsi rassemblés dans les résidus somatiques après la sporulation. Chez *Phialoïdes,* ces petits grains d'excrétion sont encore plus nombreux dans les boules de reliquat et faciles à observer surtout sur le vivant (fig. 88 pl. IV). Sur des préparations colorées au Giemsa, ils se colorent en rouge.

Phialoïdes ornata Léger.

Phialoïdes ornata habite l'intestin des larves d'Hydrophiles (*Hydrophilus piceus*), où on la rencontre parfois en quantité considérable. Ses sporocystes, par leur forme ovoïde biconique (fig. 101 pl. IV), peuvent être considérés comme le type des sporocystes d'Actino-

céphalides sens. stricto., car c'est là une forme commune également aux genres *Actinocephalus*, *Pileocephalus*, *Discorhynchus*, *Amphoroides*, *Schneideria*, *Bothriopsis*, etc., mais d'autre part, la forme si compliquée de l'épimérite indique certainement une espèce déjà fort éloignée des Actinocéphalides typiques. Il y avait donc intérêt à comparer les phénomènes sexuels de cette espèce hautement différenciée à ceux des *Actinocephalus* et des *Pileocephalus* à épimérite plus simple. Nous étudierons successivement ces diverses formes.

Nous n'avons pas suivi en détail chez *Phialoïdes* la multiplication des noyaux qui conduit à la gámétogenèse mais les quelques préparations que nous avons de ces stades nous montrent comme chez *Hoplorhynchus*, qu'il y a deux sortes de noyaux, les uns gros, très peu nombreux, non utilisés pour la chromatine sexuelle, les autres à multiplication active devenant très nombreux et petits, à chromatine tassée en épaisse calotte avec un petit nucléole central.

Les gamètes s'individualisent suivant le mode relaté précédemment. Ils naissent à la surface des lobes gamétogènes comme de petites éminences coniques de protoplasme clair, et surmontés déjà d'une longue tigelle dont la base est immédiatement en rapport avec le noyau (fig. 90 pl. IV). Au cours de ce processus de nombreux noyaux restent inutilisés. Ils montrent alors leur chromatine tantôt condensée en deux calottes polaires, tantôt en quatre amas massifs (*n'n'* fig. 90 pl. IV) et, en un point de leur surface, on voit souvent la baguette centrosomienne plus ou moins étirée.

Les gamètes sont différenciés comme dans l'espèce précédente en spermatozoïdes mobiles et flagellés, et en oeufs sphériques ou subsphériques.

La structure cytologique est identique dans les gamètes mâles et femelles. C'est un cytoplasme à larges alvéoles et à réseau fortement colorable avec un noyau sphérique à chromatine périphérique et petit nucléole central.

Les spermatozoïdes (fig. 93 pl. IV) rappellent beaucoup, in vivo, ceux des *Hoplorhynchus*, mais leur taille est notablement plus considérable.

Il faut noter ici que nous avons constamment rencontré des spermatozoïdes de deux tailles, les uns petits, de 4 μ 80 de longueur sans compter le fouet; les autres de 6 μ 40. Ces deux sortes de spermatozoïdes sont munis d'un flagellum long d'environ 15 μ et dont on peut suivre la racine intracytoplasmique jusqu'au centrosome (fig. 92 et 93 pl. IV). Leur structure est identique et nous ne pouvons dire s'ils sont tous les deux fertiles, hypothèse probable d'ailleurs, car, après les copulations, les éléments mâles inutilisés, très peu

nombreux, n'appartiennent pas exclusivement à l'une des deux sortes. Le dégénérescence des éléments mâles stériles commence, comme chez ceux de *Stylorhynchus*, par le rejet de la queue devenue immobile le long du corps (fig. 91 pl. IV), survient ensuite leur mise en boules sous l'aspect de pseudogamètes et enfin leur diffluence.

Les gamètes femelles, sphériques, mesurent 5 μ 50 (fig. 94 pl. IV).

La copulation s'effectue selon le type *Stylorhynchus* et après une période de mobilité très active des gamètes comme chez les *Hoplorhynchus*. Les copula, quelque temps encore mobiles, effectuent des mouvements de rotation sur elles-mêmes, puis perdent leur fouet et deviennent sphériques (fig. 95 pl. IV), mesurant de 7 μ 20 à 7 μ 50 de diamètre.

Les noyaux s'unissent (fig. 96 pl. IV), puis la copula se transforme en sporocyste biconique. Pour cela, elle devient ovoïde (fig. 97 pl. IV), puis passe par un stade légèrement arqué (fig. 98 pl. IV) par prédominance du développement d'un côté. Mais tandis que ce processus va toujours en s'accentuant chez les *Hoplorhynchus* pour aboutir à la forme en croissant, ici, au contraire, la forme se régularise et par une croissance symétrique aboutit au type biconique régulier (fig. 99 pl. IV).

A ce moment seulement, c'est-à-dire lorsque la copula a atteint sa forme définitive, s'effectue la division nucléaire aboutissant à la formation des huit sporozoïtes. Pour cela, le noyau de conjugaison qui est toujours resté jusqu'ici à la surface de la copula dans la zone équatoriale, montre un beau stade spirème à cordon épais, puis une mitose typique avec un long chromosome d'union, conduisant au stade à deux noyaux au repos (fig. 15 texte). Le même processus aboutit au stade à quatre (fig. 100 pl. IV); puis à huit noyaux définitifs.



Fig. 15.
Division du noyau dans la copula de *Phialoïdes*.

La paroi est sécrétée peu à peu au cours de ces divisions et, déjà au stade à quatre noyaux (fig. 100 pl. IV), elle est assez différenciée pour gêner considérablement la coloration.

Les sporocystes mûrs (fig. 101 pl. IV) mesurent en moyenne 10 μ × 6 μ 75. En leur centre se voit un globule de reliquat sphérique et brillant.

Comme chez *Hoplorhynchus*, après la formation des sporocystes, le reliquat inutilisé se voit sous forme de boules ovoïdes, chargées de nombreux petits corps cristalloïdes d'excrétion (fig. 88 pl. IV).

Actinocephalus et *Pileocephalus*.

Chez ces deux genres qu'il nous suffit de comparer aux précédents, on sait que le sporocyste est biconique et par conséquent du même type que chez *Phialoïdes*, mais l'épimérite diffère profondément. Chez *Actinocephalus* il porte une couronne de crochets (fig. 11 texte) et chez *Pileocephalus* il est en forme de tête conique (fig. 12 texte).

Nous avons seulement observé les gamètes et la „danse des sporoblastes" chez un *Actinocephalus* sp. voisin de *Act. Dujardini* A. Schn. et qui habite l'intestin de *Lithobius martini*.

Les gamètes, différenciés en spermatozoïdes et oeufs comme dans les espèces précédentes, sont de petite taille. Les spermatozoïdes, doués de mouvements très vifs, ce qui provoque une „danse" fort animée, mesurent seulement 3 μ 20 pour la longueur du corps avec un fouet de 8 μ. Leur noyau antérieur est fortement colorable et surmonté d'une tigelle assez longue (fig. 89 a et b pl. IV.) Les oeufs sont sphériques de 3 μ de diamètre et montrent leur noyau périphérique surmonté d'une courte tigelle (fig. 89 c pl. IV). La forme et la structure de ces gamètes ainsi que la forme des sporocystes nous donne la certitude que le processus sexué se déroule ici, au moins dans ses grandes lignes, comme dans l'espèce précédente dont les sporocystes sont de même forme.

Il en est de même pour le *Pileocephalus* dont nous avons suivi in vivo le développement de nombreux kystes appartenant à l'espèce *P. Heerii* A. Schn., de l'intestin des larves de *Phryganea grandis*. Ici, toutefois, les éléments sexuels sont de taille bien plus considérable que chez l'*Actinocephalus* précédent. Les éléments mâles mesurés vivants atteignent 11 μ de long sans compter le flagellum de 20 μ, et les femelles, 6 μ de diamètre. Les uns et les autres sont chargés de gros grains de réserve entre lesquels se voient sur le vivant, quelques petits corpuscules brillants représentant les produits d'excrétion. La forme et l'aspect de ces éléments sont assez semblables à ceux des *Phialoïdes* (fig. 117, 118 et 119 pl. IV) pour qu'il soit inutile d'en donner une figure spéciale.

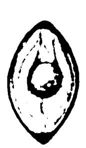


Fig. 16.
Sporocyste de
Pileocephalus heerii.

Après une période de mobilité très active les copulations ont lieu et donnent des copulas d'abord sphériques qui, à la suite de transformations semblables à celles que nous avons décrites plus haut pour *Phialoïdes*, aboutissent finalement à des sporocystes ovoïdes biconiques (fig. 16 texte).

Geneiorhynchus Monnieri A. Schn.

Cette Grégarine, qui habite l'intestin des nymphes de Libellulides du genre *Anax*, est caractérisée par son épimérite en forme de tête épineuse (fig. 14 texte), et ses sporocystes ovoïdes de grande taille $12\mu \times 6\mu$, terminés aux deux pôles par un court tube hyalin dépendance d'une frêle épispore (fig. 85 à 87 pl. IV).

Nous avons pu suivre assez facilement, dans les kystes de cette espèce, les phénomènes sexuels sur le vivant. Dans un kyste placé en goutte suspendue, on voit successivement chaque individu se diviser en boules de plus en plus petites à la surface desquelles se formeront finalement les gamètes. Cette lobulation du soma est ici des plus démonstratives et des mieux caractérisées en raison de ce que lobes et lobules sont à peu près sphériques et d'égale dimension.

Les gamètes différenciés suivant le type déjà décrit sont de grande taille et montrent une phase d'agilité très active, mais de courte durée (deux heures environ), pendant laquelle on voit les éléments présenter successivement les divers mouvements caractéristiques du stade précopulatoire: trépidation, oscillation, rotation, procession, à la suite desquels surviennent les copulations.

Nous avons représenté (fig. 81 et 84 pl. IV) l'élément mâle et l'élément femelle de cette espèce. Le corps de ces gamètes mesure 6 à 7μ; chez les mâles, le fouet atteint 17μ. Nous avons observé en outre des spermatozoïdes un peu plus gros, munis d'un long rostre et d'un gros noyau hyperchromatique (fig. 83 pl. IV), nous les considérons comme des éléments stériles comparables à ceux observés par Léger chez *Stylorhynchus*. Les copula d'abord globuleuses et conservant quelque temps le fouet mâle (fig. 82 pl. IV) aboutissent après un léger allongement aux sporocystes ovoïdes biconiques, caractéristiques de l'espèce.

Nous avons représenté (fig. 85, 86, 87 pl. IV) les trois stades successifs de maturation de ces sporocystes, dont on n'avait pas encore de figure détaillée, pour montrer leur structure et les transformations du reliquat. Celui-ci, constitué en majeure partie d'une part par le reste des grains de réserve emporté par les gamètes et dont une portion a été utilisée pour la formation des sporozoïtes, d'autre part, par les quelques grains d'excrétion pris également par ces gamètes aux lobes somatiques de la Grégarine mère, forme tout d'abord un amas sphérique situé à un pôle (fig. 85 pl. IV). Il gagne plus tard le centre (fig. 86 pl. IV), puis finalement s'étire en haltère pendant que les sporozoïtes se disposent régulièrement autour de lui selon le

grand axe du sporocyste (fig. 87 pl. IV). A ce stade le kyste s'ouvre de lui-même par rupture de la paroi en formant deux larges ouvertures diamétralement opposées et laissant seulement un anneau pariétal équatorial. Les sporocystes s'échappent des deux côtés, disséminés au milieu d'un reliquat granuleux assex considérable.

Ancyrophora.

Le genre *Ancyrophora* caractérisé par ses sporocystes épineux (fig. 115 pl. IV) est surtout répandu chez les Coléoptères carnassiers. Nous avons pu suivre les phénomènes sexuels chez un Ancyrophore que nous avons trouvé en grand nombre dans le *Licinus brevicollis* des environs d'Oran, et que nous rapportons à l'*Ancyrophora gracilis* Léger, espèce que l'on rencontre fréquemment en France chez d'autres Carabiques, notamment chez le Carabe doré.

Les phénomènes sexuels se déroulent dans cette espèce tout à fait comme chez les *Hoplorhynchus* étudiés au début de ce chapitre; aussi pour éviter des redites inutiles, ne signalerons-nous ici que les quelques particularités qui la caractérisent.

Les éléments mâles passent d'abord par un stade ovoïde (fig. 104 pl. IV) qui suit le perlage; où l'on peut déjà voir in vivo les tigelles très développées (fig. 116 pl. IV). Ils donnent ensuite des spermatozoïdes d'abord à longue tigelle (fig. 103 pl. IV), puis à rostre assez court (fig. 106 pl. IV), de 6 μ 40 de long sans compter le fouet. Certains de ces éléments semblent pousser plus loin leur évolution et aboutissent à des formes plus allongées à noyau condensé (fig. 102 pl. IV) qui sont, probablement stériles, car on en trouve qui dégénèrent par la suite en devenant globuleux.

Les oeufs (fig. 105 pl. IV) sont sphériques de 3 μ 50 de diamètre.

La copulation s'effectue suivant le type connu. Après une active mêlée sexuelle apparaissent des copula d'abord piriformes (fig. 108 pl. IV), ensuite sphériques (fig. 109 et 110 pl. IV), de 5 μ de diametrè environ au moment où les deux noyaux se fusionnent (fig. 110 pl. IV).

La copula prend peu à peu une forme biconique à pôle aplati (fig. 111, 112 et 113 pl. IV) et à noyau situé contre la paroi dans la zone équatoriale. A ce moment apparaissent les pointes sous forme de petites éminences cuticulaires plus colorables, qui s'allongent peu à peu (fig. 114 pl. IV). Il en apparaît 6 régulièrement espacées à l'équateur et, à chaque pôle, ordinairement trois, parfois seulement deux, plus rarement une seule plus longue. C'est le début de la formation de la paroi épisporale qui se double bientôt d'une endo-

spore plus épaisse à mesure que se divise le noyau et se façonnent les sporozoïtes.

Le sporocyste mûr (fig. 115 pl. IV) mesure 8 $\mu \times 5$ μ. Les pointes équatoriales dépassent 1 μ de longueur. Comme dans les cas précédemment étudiés, il reste de nombreuses boules stériles ordinairement rondes, de 10 à 15 μ de diamètre. Elles sont chargées de grains d'excrétion et leur cytoplasme fortement colorable renferme de quatre à huit noyaux riches en chromatine.

En somme, l'étude de la sexualité chez les formes les plus variées d'Actinocéphalides nous montre une remarquable uniformité du processus:

Multiplication nucléaire donnant des noyaux de deux sortes les uns destinés à dégénérer, les autres devenant finalement les noyaux sexuels; division du corps des gamontes en lobes gamétogènes avec différenciation sexuelle cytoplasmique.

Gamètes sexuellement différenciés en oeufs immobiles et spermatozoïdes flagellés chargés tous les deux de grains de réserve et de quelques grains d'excrétion; spermatozoïdes de deux sortes.

Période d'agitation sexuelle précopulatoire ou "danse des sporoblastes" très vive, mais de courte durée.

Copula passant d'abord par un stade sphérique à synkaryon avant de subir ses transformations morphologiques définitives.

Multiplication du noyau de la copula ne commençant qu'après acquisition de la forme définitive du sporocyste.

IV. Evolution sexuée chez les Clepsidrinides.

(Avec la pl. V.)

Historique. Les premiers travaux qui se rapportent d'une façon précise à l'étude de la reproduction sexuelle des Clepsidrinides sont dus à Berndt (1902), qui a suivi le processus sexué chez les Clepsidrines (*Gregarina*) vivant dans les larves de *Tenebrio molitor: G. cuneata*, *G. polymorpha* et *G. steini*.

On sait d'ailleurs que le prélude de la reproduction sexuelle, c'est-à-dire l'accouplement, était connu depuis longtemps chez les Clepsidrines puisque, par sa précocité, il constitue, pour ce genre de Grégarines, un caractère très important. Cet accouplement des

Gregarina par les extrémités de nom contraire est, du reste, un phénomène trop souvent décrit pour que nous y revenions dans ce mémoire. Laissant de côté les travaux antérieurs à la découverte du véritable processus sexué chez les Grégarines et se rapportant seulement aux modifications nucléaires des individus enkystés, nous examinerons donc rapidement les résultats des divers observateurs qui, avec Berndt, se sont occupés jusqu'ici de la reproduction sexuée dans le genre *Gregarina*.

Berndt (1902), après avoir confirmé le fait que les kystes normaux des Clepsidrines renferment deux individus préalablement accolés, fait remarquer que, lorsque ces individus sont trop jeunes ou de taille trop différente, les kystes meurent sans évoluer. Il en est de même lorsque plusieurs satellites sont attachés au primite. De même aussi lorsqu'un individu isolé s'enkyste. Ces kystes solitaires sont voués à la dégénérescence.

Suivant le développement des kystes normaux à deux individus, Berndt décrit pour l'origine des noyaux des sporoblastes un processus bien différent du premier fuseau observé par Siedlecki, Cuénot etc., chez les *Monocystis*. D'après lui, le noyau de chaque individu prend l'aspect flammé, puis, après émiettement du nucléole, se disloque en petits morceaux qui émigrent vers la surface, où ils deviennent le point de départ des noyaux de multiplication qui vont donner les sporoblastes. C'est là une division multiple qu'il compare à celle qu'ont décrite Caullery et Mesnil (1900) chez un *Selenidium*. Les petits noyaux se multiplient ensuite par mitose primitive pour donner les noyaux des gamètes.

Il considère les gamètes copulants comme semblables (isogamie), sans pouvoir décider s'ils appartiennent respectivement à chaque conjoint. Enfin, il remarque que le noyau de la copula est d'abord allongé, puis s'arrondit peu à peu. Les huit noyaux des sporozoïtes dérivent ensuite du noyau de copulation par division directe.

Le processus sexué suivi sur le vivant par le même auteur, lui montre que, dans le kyste, un des individus est en avance d'une heure environ sur l'autre. Les sporoblastes (gamètes) naissent à la surface des conjoints sous forme de petites éminences claires très rapprochées, s'aplatissent mutuellement et finalement se détachent. Puis les reliquats émettent des prolongements mobiles, rétractiles, qui mélangent les gamètes (que l'auteur considère comme dépourvus de mouvements propres) et facilitent leur rencontre. La copulation effectuée, les deux reliquats se fusionnent en un corps central autour duquel se trouvent d'abord les copulas. Celles-ci gagnent ensuite le

centre où elles se transforment en sporocystes, qui seront finalement expulsés au dehors par les sporoductes.

Léger (1904) dans la partie générale de son étude sur le reproduction sexuée de *Stylorhynchus* annonce, par contre, une anisogamie chez les Clepsidrines avec différences sexuelles secondaires au moins chez certaines espèces. Il confirme en outre les mouvements des soma dans le kyste, mais les interprète comme mouvements de rotation qui ne sont pas dus à des prolongements amiboïdes.

Paehler (1904) étudie à son tour la sexualité chez les Clepsidrines en s'adressant à *G. ovata* des Forficules. Il constate, au début de l'enkystement, la dissolution du nucléole et la disparition de la membrane nucléaire, pense qu'il existe alors un premier fuseau semblable à celui des Monocystidées, mais sans avoir réussi à le voir. En tous les cas, il observe les stades à quelques noyaux de multiplication se divisant par mitose avec centrosomes, la migration des noyaux à la surface du corps où ils donnent des gamètes globuleux ou ovales. Il signale ensuite pour la première fois un phénomène important, la réduction chromatique des gamètes. Ceux-ci, en effet, après leur mise en liberté, montrent une division mitotique de leur noyau ayant pour résultat d'éliminer un corps de réduction unique, avant la copulation. Pour Paehler, ce seraient peut-être seulement les éléments femelles qui subiraient cette réduction. Toutefois il ne constate aucune différence morphologique entre les gamètes copulants non plus qu'entre les deux conjoints du kyste; donc, d'après lui l'isogamie serait parfaite.

Schnitzler (1905) reprend l'étude de *G. ovata* après Paehler, et confirme l'isogamie admise par l'auteur précédent. S'attachant à suivre le sort du noyau des conjoints et à rechercher par cela même l'origine des noyaux sexuels, il apporte sur ce point une observation importante: le premier fuseau se forme dans une vacuole située au milieu des éléments chromatiques provenant du noyau primitif, après que celui-ci a perdu sa membrane et que le nucléole s'est disloqué en nombreux grains. C'est-à-dire qu'il se forme aux dépens d'un petit noyau provenant d'une minime portion du noyau primitif. Schnitzler n'a pas vu les stades qui suivent immédiatement, mais cependant des stades à noyaux encore peu nombreux qui se multiplient par mitose et donnent des noyaux de plus en plus petits. Ces noyaux ont leur chromatine disposée en petits grains ou en bâtonnets périphériques et montrent en outre, plus près de la membrane, un petit grain colorable qu'il regarde comme un centrosome intranucléaire. L'auteur confirme ensuite la réduction chromatique des

sporoblastes découverte par Paehler et en précise les détails en montrant, entre autres, que, dans la mitose réductrice, les centrosomes sont de taille différente. Il note en outre que les gamètes des deux hémisphères subissent la réduction chromatique, un seul corps de réduction étant expulsé. Schnitzler admet que la copulation est isogame, cependant il a cru quelque temps à l'anisogamie car il avait vu sur ses coupes, outre les sporoblastes, de petits corps terminés en une pointe fortement colorable, qu'il regardait volontiers comme des microgamètes. Cette observation est pleine d'intérêt et nous allons montrer plus loin la véritable signification de ces corps sur lesquels Meisenheimer (un collaborateur de Schnitzler) s'est complètement mépris, en les interprétant comme des artefacts dus à des plissements de l'enveloppe dans lesquels le cytoplasme avait pénétré et retenait fortement la couleur. Abandonnant donc l'hypothèse de l'anisogamie, Schnitzler se rallie complètement à l'isogamie parfaite. Il affirme en outre que les sporoblastes (gamètes) sont sans mouvements et que du reste ceux-ci seraient impossibles en raison de l'étroitesse de l'espace où ils se trouvent. Le même observateur reconnaît ensuite que les divisions nucléaires de la copula destinées à fournir les huit noyaux des sporozoïtes s'effectuent par mitose typique et que la paroi du sporocyste se forme ordinairement au stade à huit noyaux, parfois avant, au stade à quatre noyaux.

Kuschakewitsch (1907) étudie à son tour le processus sexué chez *G. cuneata* des larves de *Tenebrio molitor*, et aboutit à des résultats qui diffèrent étonnamment de ceux des observateurs précédents. Pour lui le noyau primitif de chaque syzygite gagne la surface où il disparaît en donnant naissance à une zone chromidiale périphérique, c'est le stade de kyste chromidial pendant lequel il n'y a plus trace de noyau. Puis dans ce chromidium se reconstituent des petits noyaux aux dépens de grains chromatiques disposés d'abord en arc, puis en une sorte de réseau nucléaire.

Le plasma se condense ensuite autour des noyaux et ainsi se constituent de petites cellules de 5 μ, ce sont les cellules grand'-mères des gamètes.

Par deux divisions successives effectuées suivant deux directions perpendiculaires, elles donnent chacune naissance à quatre gamètes sphériques de 3 μ de diamètre. Chacun de ces gamètes possédant un noyau dont le nombre des éléments chromatiques est moindre que celui des noyaux des cellules mères. il y a là en même temps réduction chromatique et, en fait, l'auteur dessine seulement six éléments chromatiques dans le noyau des gamètes (voir ses fig. 83

et 84), et douze dans celui des cellules mères (voir sa fig. 76). A la suite de la copulation, qu'il regarde comme isogame, le synkaryon montre pourtant huit chromosomes en haltère. Puis la copula s'allonge, et sans que l'auteur ait pu voir la première division du synkaryon, il considère comme peu vraisemblables les données de BERNDT d'après lesquelles cette division se ferait dans une direction perpendiculaire au grand axe de la copula, car il voit les deux noyaux-fils sous forme d'une calotte massive aux deux pôles de l'élément (voir sa fig. 89). Enfin, d'après l'auteur, les noyaux des huit sporozoïtes définitifs proviennent des deux premiers par deux divisions directes.

On voit par ce court historique de la question de la sexualité chez les Clepsidrines, que le désaccord règne parmi les auteurs. Pour n'envisager que les points les plus importants, alors que BERNDT voit les noyaux sexuels dériver d'une mitose multiple, PAEHLER suppose un premier fuseau, SCHNITZLER le voit, et KUSCHAKEWITSCH les fait naître par contre au sein d'un chromidium périphérique. Tandis que LÉGER (1904) signale l'anisogamie avec gamètes mobiles, tous les autres auteurs décrètent l'isogamie, à gamètes immobiles; BERNDT et LÉGER voient des mouvements somatiques que KUSCHAKEWITSCH ne retrouve pas. Enfin ce dernier découvre une gamétogenèse et une réduction chromatique qui ne ressemblent en rien à ce qu'ont décrit les auteurs précédents. De plus il affirme avec BERNDT que les divisions nucléaires qui président à la formation des sporozoïtes sont des amitoses tandis que SCHNITZLER les décrit comme des mitoses typiques etc. Ces nombreuses contradictions sur des points capitaux de l'histoire de la sexualité suffisent pour montrer la nécessité de nouvelles recherches sur le groupe des Clepsidrines.

Evolution sexuée de *Gregarina Munieri* A. SCHN.

Bien que les recherches que nous avons entreprises sur ce groupe ne soient pas complètes, car il nous manque l'histoire du premier fuseau, nous jugeons cependant utile d'en faire connaître dès maintenant les résultats pour les quelques éclaircissements qu'ils apportent.

Le matériel qui nous a servi d'objet d'étude se rapporte surtout à *Gregarina* (*Clepsidrina*) *Munieri* A. SCHN. espèce qui habite pour ainsi dire constamment l'intestin de *Timarcha tenebricosa* (Coléoptère) et que nous avons trouvée en outre en grande quantité chez *Chrysomela lucida* du Midi de la France. Nous avons en même temps

comparé nos résultats avec ceux que nous ont fourni l'observation de la sporogonie chez *Gregarina blattarum* (Sieb), *G. acridiorum* (Léger) et *G. polymorpha* (Hamm). Ces diverses espèces de Grégarines montrent des différences si peu importantes dans le processus sexué qu'il est inutile de les décrire successivement. Il n'existe en effet que de petites variations de détail que nous signalerons chemin faisant, lorsque nous le jugerons nécessaire, au cours de notre description générale qui s'applique à *Gregarina Munieri.*

Kystes. Chez *Gregarina Munieri*, comme d'ailleurs chez la plupart des Clepsidrines, l'affinité sexuelle des gamontes est très précoce, et le plus souvent les sporadins sont accouplés en paires par leur extrémité de nom contraire. Ces couples aboutissent comme on le sait, à la formation de kystes ovoïdes découverts par Schneider qui en a donné une excellente description. Ils sont colorés en jaune orange, comme les sporadins qui leur ont donné naissance. Les deux conjugués occupent chacun une moitié du kyste et, comme ils se dépriment mutuellement, il en résulte qu'au niveau de la zone équatoriale du kyste, se trouve un espace libre, annulaire, à section triangulaire que nous appelons le couloir mitoyen (*c m* fig. 125 pl. V).

Tel est l'aspect du kyste au moment où il est expulsé de son hôte avec les résidus alimentaires. On sait que, conservé en chambre humide, il donnera naissance au bout de quelques jours, à de nombreux sporocystes en forme de barillets, lesquels seront, à leur maturité, évacués en longues files, au moyen de tubes spéciaux désignés sous le nom de sporoductes.

Disons tout de suite que nous avons trouvé assez souvent chez *G. Munieri* et *G. polymorpha*, des kystes solitaires. Ceux-ci se sont toujours montré stériles, ainsi que Berndt l'avait déjà remarqué.

Suivons donc d'abord in vivo et ensuite sur préparations colorées, le processus sexué qui se déroule à l'intérieur de ces kystes pour aboutir à la sporogonie.

Le processus sexué suivi in vivo.

Gamètogenèse. Immédiatement après l'évacuation des kystes, on constate que, dans chaque hémisphère, le plasma granuleux des Grégarines s'étend jusqu'au voisinage de la paroi kystique. C'est le stade de début de multiplication des noyaux pendant lequel les premiers noyaux-fils, encore peu nombreux, se multiplient activement au sein du cytoplasme grégarinien. Ce stade dure une vingtaine

d'heures après l'expulsion des kystes, par une température de 18°. Rappelons en passant que tout le processus sexué est rapidement accéléré par l'élévation de la température.

Donc, à une température de 18°, au bout d'une vingtaine d'heures après l'expulsion, on voit, à la surface de chaque Grégarine enkystée, une mince bande de protoplasme clair, non granuleux, premier indice de la localisation du plasma et des noyaux sexuels à la surface du corps grégarinien.

Ainsi que l'a bien observé BERNDT, cette bande claire se manifeste d'abord dans une des Grégarines et n'apparaît dans l'autre qu'un peu plus tard. Pour nous, c'est déjà là un signe de la différenciation sexuelle, la Grégarine la plus précoce étant la Grégarine mâle.

A mesure que se différencie cette zone périphérique de plasma hyalin, la surface de chaque Grégarine se découpe en lobes massifs, ordinairement hémisphériques ou en calotte, c'est à dire rattachés par une large base au reste du corps. En même temps, la bande de plasma hyalin se festonne sur son bord libre et, bientôt, la surface de chaque lobe grégarinien se montre recouverte de petites éminences claires, de plus en plus nombreuses, d'abord coniques puis globuleuses (fig. 123 pl. V). C'est le „stade de perlage“ ainsi que LÉGER l'a désigné dans son travail sur *Stylorhynchus*, stade qui constitue un point de repère précis dans l'étude de la gamétogenèse.

Ce stade de perlage est caractérisé par la présence, à la surface du corps lobé de chaque Grégarine, d'une seule couche de globules hyalins comme de petites perles, munis chacun d'un noyau et représentant le début des gamètes encore indifférenciés sexuellement. Chez *G. Munieri*, ce stade est atteint environ deux heures après l'apparition de la bande claire périphérique signalée plus haut.

Les petites perles claires continuent à grossir en s'allongeant et comme elles se compriment l'une l'autre latéralement, elles prennent bientôt l'aspect de bâtonnets placés côte à côte (fig. 124 pl. V). Cet allongement se manifeste tout d'abord dans l'une des Grégarines, où d'ailleurs il est toujours plus marqué que dans l'autre et où les bâtonnets se terminent par un petit rostre: c'est la Grégarine mâle.

A la surface de la Grégarine femelle, les cellules sexuelles prennent également la forme de bâtonnets, mais elles sont un peu moins acuminées et un peu plus réfringentes que les éléments mâles. Nous donnerons à ce stade où la surface des lobes grégariniens est de part et d'autre hérissée de bâtonnets le nom de stade à bâtonnets. Il est réalisé environ deux heures après le stade de perlage.

G a m è t e s. C'est à la fin du stade à bâtonnets, lequel dure deux heures environ, que les éléments sexuels sont mis en liberté. Comme chez *Stylorhynchus*, les premiers qui se détachent du soma sont les éléments mâles ou spermatozoïdes; ils quittent leur rang, tantôt isolément, tantôt par gerbes et gagnent bientôt le couloir mitoyen circulaire compris entre les deux somas grégariniens qui sont encore distincts (*c m* fig. 125 pl. V). Dès leur mise en liberté, leur forme en bâtonnets se modifie: ils deviennent piriformes avec un petit rostre mobile à la partie antérieure tandis que postérieurement ils montrent une queue protoplasmique, très grèle, filiforme, dépourvue de filament axile (fig. 133 pl. V), disparaissant rapidement en laissant seulement comme trace un court prolongement (fig. 134 pl. V). Bientôt tout le couloir mitoyen est rempli d'éléments mâles et c'est à ce moment que les éléments femelles quittent le soma.

Lorsque les gamètes femelles se détachent, ils sont d'abord piriformes par étirement de la portion proximale, puis deviennent sphériques (*a et b* fig. 147 pl. V). La mise en liberté des gamètes est souvent difficile à observer chez *G. Munieri*, en raison de l'étroitesse du couloir mitoyen; chez *G. Blattarum* elle est ordinairement plus facile à suivre.

Libres, les éléments sexuels mâles et femelles sont à peu près d'égale grosseur. En raison de leur forme assez massive et de leur aspect également hyalin, ils sont alors difficiles à distinguer les uns des autres. Toutefois les mâles, qui sont métaboliques et pourvus d'un rostre très mobile, sont ordinairement piriformes ou en forme de navette renflée, ou même ovoïde, et mesurent de 5 à 6 μ de longueur; tandis que les femelles sont à peu près sphériques, de 3 μ 50 de diamètre, et ne montrent pas de rostre tactile. Les deux sortes d'éléments sont formés d'un plasma hyalin avec seulement quelques granulations brillantes (fig. 133 à 139 pl. V), et dépourvus de ces gros grains de réserve caractéristiques des gamètes de Stylorhynchides et d'Actinocéphalides. Il en résulte que les sporocystes des Clepsidrines sont ordinairement dépourvus de reliquat et de toute substance étrangère aux sporozoïtes, ce qui donne à leur contenu un aspect homogène et rend très difficile l'observation des sporozoïtes, qui sont d'ailleurs restés longtemps méconnus.

Au bout d'un quart d'heure, tous les éléments sexuels mûrs sont libres; mais ils sont loin d'être mélangés, n'étant guère en contact que dans le couloir mitoyen. Ailleurs, ils sont logés dans de grandes dépressions de la surface de leur soma respectif.

C'est à ce moment que les soma présentent une particularité

des plus remarquables. Loin de se comporter comme des reliquats désormais sans vie, ils commencent à montrer des mouvements lents de rotation l'un sur l'autre, s'effectuant dans un sens déterminé pendant quelques minutes, puis en sens inverse, et ainsi de suite. Ce brassage dégage les gamètes, logés dans les dépressions des deux somas et, au bout de quelque temps, la mêlée sexuelle est complète.

Berndt (1902) a observé aussi des mouvements dans le kyste de *Gregarina cuneata*, mais pour lui, ce sont des prolongements amiboïdes des somas qui contribuent ainsi à brasser les éléments sexuels. Nous avons reconnu que, dans cette espèce, il s'agit également de mouvements de rotation du soma et non de pseudopodes.

Lorsque les mouvements cessent, les deux somas grégariniens se fusionnent en une masse homogène, ovoïde, entourée d'un espace assez large, constituant le copularium, où se trouvent les gamètes mélangés. Parmi ceux-ci, on voit alors les mâles agiter leur rostre, se recourber, se redresser, se glisser entre les femelles qui demeurent sphériques: c'est là le stade précopulatoire qui correspond à la danse chez *Stylorhynchus*; mais, chez *Gregarina*, l'agitation des éléments sexuels est beaucoup moins vive, c'est plutôt un grouillement indolent qu'une danse, et il faut une grande attention pour l'observer tant à cause de la lenteur des mouvements que du nombre extrêmement grand des gamètes réunis dans un espace étroit.

Ces mouvements des éléments males ne peuvent du reste s'observer que par transparence à l'intérieur du kyste. Lorsque celui-ci est éclaté et que les spermatozoïdes sont observés dans le liquide physiologique, ils prennent aussitôt une forme globuleuse et leurs mouvements cessent immédiatement. On s'explique ainsi qu'ils aient jusqu'ici échappé à l'observation. Chez *Stylorhynchus*, au contraire, les spermatozoïdes conservent dans l'eau salée leur forme et leurs mouvements pendant assez longtemps.

A ce stade où tous les gamètes maintenant libres sont disposés côte à côte dans le copularium et présentent des mouvements plus ou moins perceptibles selon l'instant où on les observe, le kyste offre un aspect assez caractéristique que Schneider (1875) désignait sous le nom d'aspect en mosaïque. En coupe optique, en effet, son contenu montre au centre la masse granuleuse formée des deux somas fusionnés entourée de plusiers rangées de petites alvéoles polygonaux (mosaïque) représentant le contour des gamètes tassés les uns contre les autres (fig. 126 pl. V). Et nous devons faire remarquer ici que ce judicieux observateur, considérant à juste titre

les éléments de la mosaïque comme les „premiers rudiments des spores“ avait déjà soupçonné qu'il devait y avoir au cours de ce processus de sporulation, „quelque période particulière d'activité des petits corps appelés à devenir les germes reproducteurs“. (Schneider (1875) page 41.)

C'est au début de ce stade de „mosaïque“ c'est-à-dire après la libération des gamètes que se produit le phénomène de la réduction chromatique signalée pour la première fois par Paehler (1904). Nous y reviendrons dans notre étude cytologique; pour le moment, nous dirons seulement qu'il est exprimé sur le vivant par l'apparition, à la surface de chaque gamète, d'un petit corpuscule brillant (le noyau expulsé) ou globule polaire. Celui-ci parfois se détache et présente des mouvements browniens assez vifs qui pourraient le faire prendre pour un minuscule microgamète.

Copulation et copula. La période de mobilité des gamètes (passive au moyen des mouvements somatiques, active par les mouvements propres des spermatozoïdes) dure à peine deux heures au bout desquelles s'effectuent les copulations. Celles-ci ont lieu à peu près synchroniquement. Le spermatozoïde s'accole à l'œuf, le plus souvent en enfonçant son rostre dans celui-ci (fig. 136 à 139 pl. V), parfois en se fixant étroitement à sa surface sans intervention du rostre. De toute façon, aussitôt l'accolement commencé, tout mouvement cesse et le mâle prend une forme globuleuse (d fig. 139 et fig. 140 pl. V) qui le rend tout à fait semblable à l'élément femelle. A ce stade de début de la copula, il y a alors toute l'apparence d'une isogamie (fig. 140 pl. V). Cependant, dans la plupart des cas, un examen attentif in vivo permet encore de reconnaître le spermatozoïde à son rostre enfoncé dans une dépression correspondante de l'œuf (fig. 139*d* pl. V).

Finalement les deux éléments se fusionnent complètement. La copula d'abord en bissac, devient ovoïde (fig. 141 pl. V).

On peut admettre que toutes les copulations sont effectuées trois ou quatre heures après la fin de la „danse“ et par conséquent que le processus sexuel, depuis l'apparition dans chaque conjoint de la bande protoplasmique claire périphérique jusqu'à la formation des copula, a duré environ douze heures.

Les copula restent d'abord quelque temps à la surface des résidus somatiques où elles forment une ou deux couches à éléments deux fois plus gros que ceux du stade à mosaïque. C'est le stade à copula périphériques (fig. 127 pl. V). Puis elles gagnent le centre du kyste, non pas par des mouvements propres, mais, à notre avis,

sous l'action de la substance du reliquat; celle-ci, d'abord centrale, s'est insinuée ensuite à la périphérie où elle se condense et se rétracte en enserrant peu à peu les sporocystes pour constituer le sac sporoductal.

Etude cytologique du processus sexué.

Gamétogenèse. Ainsi que nous l'avons fait observer plus haut, nous avons dû, faute de matériel suffisant, laisser de côté l'étude des premières phases de la multiplication nucléaire et nous noterons seulement ici la différence de colorabilité in toto que présentent les deux individus d'un même kyste chez certaines espèces, notamment chez *G. polymorpha* (fig. 17 texte), ce qui implique dès maintenant une différence sexuelle cytoplasmique entre eux. Notre étude cytologique du processus commence seulement au moment où, dans chaque conjoint, il y a déjà un certain nombre de noyaux assez gros, sphériques, à cytoplasme fortement colorable avec de la chromatine tantôt en grains sphériques épars ou en chainettes, tantôt en plaques massives, tantôt en un spirème court et épais. En un point de leur surface se voit une éminence conique correspondant à l'appareil centrosomien. Les quelques stades antérieurs que nous avons observés nous laissent toutefois l'impression que le premier fuseau doit se former, ainsi que l'a décrit SCHNITZLER, aux dépens d'une petite portion de la chromatine du noyau primitif, comme du reste chez les Dactylophorides d'après SCHELLACK et nous-mêmes.

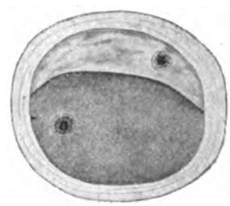


Fig. 17.
Kyste de *Gregarina polymorpha*. Coloration in toto à l'hématoxyline ferrique.

Les noyaux se multiplient rapidement par des mitoses qui rappellent beaucoup celles qu'a décrites LÉGER chez *Stylorhynchus*, et donnent des noyaux-fils de plus en plus petits qui émigrent de bonne heure dans la zone périphérique où se continuent leurs divisions.

Ce stade de migration et de multiplication des noyaux sexuels à la périphérie correspond sur le vivant au stade à bordure protoplasmique claire que nous avons pris comme point de départ de notre description in vivo.

L'active multiplication nucléaire qui donne finalement les noyaux des gamètes s'effectue par des mitoses où la membrane persiste partiellement. Les divers stades de cette mitose, ainsi que la forme et la structure de ces noyaux, sont représentés dans la figure 128

pl. V. On voit que, dans le noyau au repos, la membrane est assez fortement chromatique, et la chromatine disposée en grains ou en courts bâtonnets tantôt périphériques, tantôt tassés dans la région centrale avec un nucléole, le plus souvent indistinct. En un point de la surface, on peut distinguer, avec beaucoup d'attention, un petit prolongement conique à direction radiaire qui représente l'appareil centrosomien. Les stades de mitose que l'on observe le plus fréquemment sont des stades à spirème trapu (*b* fig. 128 pl. V), des stades à plaque équatoriale massive (*c*), stades de dyaster (*d*) avec écartement progressif des étoiles filles (*e*) qui gagnent respectivement les pôles opposés du noyau primitif et se voient alors nettement surmontées par la baguette centrosomienne. Du côté interne la baguette semble prolongée par un axe coloré qui correspond à ce que Léger et Duboscq (1903) ont appelé le chromosome axial (*e*). A l'anaphase tous les fuseaux sont légèrement arqués, comme c'est la règle chez les Grégarines. La membrane nucléaire devenue plus pâle, s'étrangle alors suivant le milieu du fuseau et les deux noyaux fils sphériques restent quelque temps accolés (*ff*). Ils montrent assez longtemps la plus grande partie de leur chromatine, ou plutôt la portion la plus chromatique de leur chromatine, sous forme d'une calotte située au-dessous de la baguette centrosomienne (*f*). Dans la suite, la chromatine regagne le centre (*a*) en même temps que la membrane nucléaire devient plus colorable et que le suc nucléaire s'éclaircit.

En somme, on voit qu'il s'agit là de mitoses de très petits éléments, caractérisées avant tout par la persistance de la membrane nucléaire, un appareil centrosomien en forme de cône étiré et un chromosome axial. Pendant ces divisions, de nombreuses particules de substance chromatique sont éliminées dans le cytoplasme, sous forme de petits grains, de bâtonnets ou de filaments irréguliers. Schnitzler (1905) a du reste donné une bonne description de ces mitoses chez *G. ovata*, mais il n'a pas signalé dans cette espèce la forme particulière en baguette du centrosome et le chromosome axial.

Au cours de la multiplication nucléaire, quelques noyaux, se divisant plus lentement que les autres, conservent une taille plus grande avec des nucléoles de forme variée et la chromatine disposée à la surface en amas étoilés ou irréguliers. Par leur aspect et leur mode de multiplication ils sont à comparer aux noyaux somatiques que Léger (1904) a signalé chez *Stylorhynchus*. Ils sont toutefois ici beaucoup moins nombreux que dans cette dernière espèce; mais nous les retrouverons néanmoins et avec une taille plus considérable jusqu'à la fin du processus sexué.

Au terme de la multiplication nucléaire, les noyaux tout à fait superficiels se soulèvent à la surface du corps grégarinien entraînant avec eux une petite éminence de cytoplasme clair qui les enveloppe et recouvre même le prolongement en baguette à direction radiaire qui correspond à l'appareil centrosomien (*a* fig. 128 et 129 pl. V). Les petites éminences cytoplasmiques uninucléées s'individualisent davantage et on arrive au stade de perlage ou stade à gamètes globuleux encore indifférenciés et reliés au soma par un pédicelle assez large (fig. 129 et 130, et fig. 123 pl. V). Au début de ce stade on voit souvent les gamètes encore groupés par deux ou par quatre (fig. 129 et 130 pl. V) disposition qui résulte de ce que les deux dernières divisions nucléaires s'effectuent assez rapidement, de sorte que les deux produits restent quelque temps rapprochés (fig. 131 pl. V). Pendant le perlage, un certain nombre de noyaux sexuels ne sont pas utilisés, sans doute par ce que, faute de place, ils ne réussissent pas à se faire jour à la surface déjà surchargée d'éminences nucléaires. On les reconnaît longtemps, au dessous de la couche superficielle, avec leur forme pointue, leur chromatine condensée en calotte surmontée d'un rostre centrosomien assez fortement colorable (*n'* fig. 131 pl. V).

A ce stade de gamètes indifférenciés, chaque cellule sexuelle est formée d'un cytoplasme clair avec noyau distal surmonté de la baguette centrosomienne. Dans le noyau, la chromatine semble tout à fait localisée en une calotte distale, c'est-à-dire située au-dessous du rostre centrosomien (fig. 129, 130 et 131 pl. V), et même étirée dans cette direction. Il en résulte que le noyau parait renfermer seulement deux chromosomes disposés en un V renversé à pointe distale (fig. 131 pl. V). Cette disposition singulière de la chromatine persiste au stade suivant (stade à bâtonnets), dans lequel les cellules sexuelles indifférenciées des deux hémisphères se sont allongées (fig. 132 pl. V). En réalité, le V chromatique n'est pas l'expression de deux chromosomes, mais la coupe optique d'une calotte de chromatine fortement colorable et légèrement étirée en cône à sommet situé au dessous du centrosome, tandis que le reste du noyau comporte une chromatine achromatique (à peu près incolorable) au niveau de laquelle on peut toutefois distinguer un petit nucléole (*a* et *b* fig. 143 et 147 pl. V).

Gamètes. — Comme nous l'avons dit dans notre étude in vivo du processus, c'est à partir de ce stade à bâtonnets que commence la différenciation sexuelle, qui devient seulement manifeste au début de la mise en liberté des éléments sexuels. Suivons d'abord cette différenciation chez le mâle. Le bâtonnet s'étire postérieurement en

un grêle filament caudal pour se détacher du soma (fig. 133 [in vivo], et *a* et *b* fig. 143 pl. V), en même temps que le rostre s'est un peu allongé. Ce noyau montre encore sa chromatine en forme de V renversé. Le filament caudal, production éphémère, n'est pas colorable: notons cependant que dans quelques rares gamètes on peut apercevoir des traces de la racine du fouet (fig. 143 pl. V). Les diverses formes de spermatozoïdes représentées de *a* à *d* fig. 143, montrent l'aspect variable de cet élément au cours de sa période de mobilité. Durant ce stade de gamètes libres, le noyau gagne le milieu de l'élément et revient peu à peu à la structure normale, en prenant une forme arrondie avec une répartition plus régulière, mais encore inégale de la chromatine (*c* et *d* fig. 143 pl. V). Les stades représentés en *a*, *b*, *c* fig. 144 pl. V, montrent qu'il existe aussi chez les Clepsidrines, des spermatozoïdes à noyau hyperchromatique, condensé sous le rostre, pareils à ceux que Léger a décrits chez *Stylorhynchus* et que nous avons retrouvés chez les Actinocéphalides. Ils représentent vraisemblablement des éléments stériles. Leur cytoplasme est souvent vacuolaire et ils dégénèrent comme ceux de *Stylorhynchus*, en repliant leur queue (*c* fig. 144 pl. V) pour se mettre en boule (*d* fig. 144). Ce sont sans doute de tels éléments que Schnitzler (1905) avait vu sur ses coupes et regardait du reste tout d'abord comme gamètes mâles lorsque Meisenheimer lui en suggéra une interprétation erronée (voir plus haut l'historique).

Les transformations morphologiques que subit l'élément femelle sont très simples (*a*, *b*, *c* fig. 147 pl. V). D'abord piriforme au moment de son détachement, il devient peu à peu globuleux en même temps que son rostre s'atténue jusqu'à disparaître. Le noyau subit exactement les mêmes modifications que celui de l'élément mâle. Il revient à la forme normale avec un tassement en synapsis des grains de chromatine, et prend une position centrale.

A ce stade, les éléments mâle et femelle vont subir la réduction chromatique. Cet important phénomène découvert par Paehler (1904) a été depuis observé avec plus de soin par Schnitzler (1905). Chez les espèces que nous avons étudiées, les figures de division nucléaire sont trop petites pour que nous puissions suivre tous les détails de la division mitotique.

Ce que nous voulons toutefois faire remarquer, c'est que, avant la réduction: 1° la chromatine du noyau se tasse en un gros amas central simulant un karyosome (*a* fig. 145 pl. V); 2° la première division de cet amas chromatique donne deux éléments à peu près égaux (*b* et *c* fig. 145); 3° le premier noyau expulsé (*d* fig. 145)

forme un fuseau externe (*e* fig. 145) et se divise souvent encore une fois, tandis que le noyau resté subit une nouvelle division, mais cette fois inégale (*d* fig. 148 pl. V). Le fait que l'on observe souvent des gamètes en voie de réduction montrant trois noyaux ou deux noyaux dont l'un, le profond est en voie de division (*c* fig. 145 pl. V) démontre à notre avis l'existence de deux divisions réductrices.

Ce phénomène de réduction se passe aussi bien chez le gamète mâle que chez les femelles et de la même façon. Les éléments mâles, au cours de la réduction montrent déjà des tendances à reprendre la forme globuleuse en se recourbant (fig. 145 pl. V) et nous savons que, dès le début de la copulation, ils sont redevenus à peu près semblables aux femelles, d'où apparence d'isogamie presque parfaite.

Quand les deux sortes de gamètes ont subi la réduction, ils sont prêts à la copulation. Ce sont alors de petits éléments cellulaires sans paroi différenciée, à cytoplasme très hyalin, sans grains de réserve, contrairement à ce qui s'observe chez tous les Actinocéphalides. Dans le cytoplasme des gamètes de *G. blattarum* (*b* et *d* fig. 146 pl. V), on aperçoit au voisinage du noyau une tache sombre qui est peut-être comparable à celle que Prowazek signale dans les gamètes de *Monocystis* en l'interprétant comme un reste de la sphère.

Le noyau d'abord sphérique avec sa chromatine en gros grains sidérophiles disposés en calotte (*a* fig. 146 pl. V), le karyosome restant indistinct, s'étire en une sorte de fuseau dans lequel l'un des pôles est occupé par les grains fortement chromatiques et l'autre par la chromatine en grains faiblement colorables (*b*, *c*, *d* fig. 146 pl. V). Le même processus a lieu dans les gamètes des deux sexes (fig. 149 et 150 pl. V).

Cet étirement en fuseau du noyau n'a rien à voir avec une division nucléaire comme nous allons le montrer. Le centrosome se voit sur le bord du fuseau vers son milieu (*b*, *c* fig. 146 et fig. 149 pl. V).

Copulation et copula. — Les différents stades représentés fig. 150 à 157 pl. V, montrent maintenant sur préparations fixées et colorées les phases successives du début de la copulation. A mesure que les deux cytoplasmes se fusionnent, les deux noyaux se rapprochent jusqu'à s'unir et de telle façon que leurs pôles clairs et leurs pôles foncés s'unissent chacun à chacun (fig. 156 et 157 pl. V). La copula d'abord en bissac est devenue ovoïde. Le noyau de copulation, primitivement en forme de grand fuseau, se rétracte peu à peu du

côté du pôle chromatique et devient sphérique en conservant toutefois une calotte conique plus colorable (fig. 157 et 158 pl. V). Après cette rétraction du noyau, les centrosomes mâle et femelle qui se trouvaient de chaque côté du fuseau d'union viennent au contact et s'unissent également (fig. 159 pl. V); le sort des karyosomes, généralement indistincts dans les pronuclei, est impossible à suivre.

Nous avons maintenant une copula, dont la forme est celle du sporocyste définitif. Son noyau ou synkaryon, sphérique, à chromatine assez régulièrement répartie en réseau, possède encore une calotte plus foncée au point où se trouvait le pôle chromatique du fuseau de conjugaison (fig. 159 pl. V). Ce n'est qu'au début de la première mitose que la chromatine se répartira également sur le spirème (fig. 160 pl. V). A ce stade se voit souvent dans le cytoplasme de la copula, notamment chez *G. blattarum*, une tache sombre (fig. 159 et 160 p. V).

Cette sorte de séparation de la chromatine dans les pronuclei et dans le synkaryon au début, est un phénomène des plus remarquables; on y peut voir une sorte de triage de la trophochromatine et de l'idiochromatine dans les pronuclei, et le mode de copulation nucléaire assure rapidement l'union des chromatines homologues de chaque gamète. Le mélange intime de ces chromatines ne se produit qu'au moment de la mitose, après leur répartition égale dans les noyaux fils.

Les figures 160 à 167 (pl. V) montrent maintenant dans la copula les divers stades de la multiplication nucléaire aboutissant à la formation de huit sporozoïtes. Après chaque mitose les noyaux passent par une courte phase de repos pendant laquelle la chromatine est surtout périphérique. Au stade à 4 noyaux commence à se différencier l'épisporocyste qui achève de donner au sporocyste des Clepsidrines sa forme caractéristique en barillet.

Lorsque sont formés les sporocystes, le reliquat fusionné des deux conjoints montre, épars, de gros noyaux somatiques à chromatine disposée en nombreux amas périphériques reliés par de fins tractus (*a* et *b* fig. 142 pl. V).

Chez *G. blattarum*, le processus sexué que nous avons suivi sur le vivant et sur frottis se déroule comme chez *G. Munieri*. Il est même plus facile de le suivre in vivo à l'intérieur du kyste et notre figure 125 (pl. V), qui montre la mise en liberté des premiers gamètes, se rapporte précisément à un kyste de cette espèce.

Les gamètes mâles diffèrent cependant quelque peu de ceux de *G. Munieri* par leur forme et leur structure cytologique. Leur rostre

est plus long et plus gros. Le cytoplasme qui le constitue semble beaucoup plus résistant, comme s'il était limité par une sorte de pellicule; cet aspect est dû sans doute à une condensation plus grande de la surface cytoplasmique. En outre, dans le cytoplasme, se voit souvent une tache sombre (*b* fig. 146 pl. V). Enfin dans la copula, au début de la fusion nucléaire, les pronuclei sont moins étirés en fuseau que chez *G. Munieri*, mais leurs pôles sont également différenciés et ils s'allongent bientôt au moment même de l'union nucléaire.

Pour nous résumer et comparer nos résultats à ceux des auteurs qui se sont occupés de la fécondation chez les Clepsidrines, nous dirons donc que la phase chromidiale de Kuschakewitsch est erronée, car, sans avoir eu le matériel suffisant pour voir le premier fuseau comme Schnitzler, nous avons vu des stades précoces à gros noyaux encore peu nombreux qui donnent toujours par mitoses successives les noyaux sexuels.

Chez les Clepsidrines, l'anisogamie est certaine, — mais elle se présente avec des différences sexuelles très peu prononcées, qui disparaissent dès le début de l'accolement des gamètes. Néanmoins il y a un stade de gamètes mobiles et, en outre, une phase d'activité des reliquats somatiques déjà vue par Berndt, mais interprétée à tort comme due à des mouvements amiboïdes.

Deux corps chromatiques sont expulsés dans le phénomène de la réduction.

Les pronuclei qui s'unissent dans la copulation sont en forme de fuseau, différencié en deux régions qui s'unissent chacune à chacune. Il y a ensuite rétraction du synkaryon et réunion des deux chromatines au moment de la première mitose.

Les divisions qui forment les sporozoïtes sont des mitoses.

La faible différenciation des gamètes chez les Clepsidrines est pour nous le résultat d'une régression et un acheminement vers une isogamie secondaire, ayant pour cause l'intervention particulière des soma dans la mêlée sexuelle.

Evolution pathologique du processus sexué.

Lorsqu'on cultive de nombreux kystes de Clepsidrines, il arrive parfois que certains d'entre eux, bien que formés au début par deux individus, subissent une évolution anormale conduisant à la formation d'éléments cellulaires atypiques. Il faut en rechercher la cause soit

dans les mauvaises conditions du milieu (brusque variation de température) ou de protection du kyste, soit dans un état pathologique préalable des individus enkystés.

Dans ces kystes malades, on observe 1° le défaut de synchronisme dans la gamétogenèse de chacun des individus, synchronisme qui est très caractéristique au cours du processus normal; 2° la structure anormale de la plupart des noyaux aux divers stades de leur évolution; 3° l'abondance dans le cytoplasme de chromatine en forme de grains irréguliers ou de chromatine dissoute.

Un tel kyste par exemple, arrivé au stade de formation des gamètes, c'est-à-dire au stade correspondant à la fin du perlage, montre des cellules sexuelles peu nombreuses, sphériques ou ovoïdes, de taille variée, souvent avec un énorme corps chromatique étiré (fig. 142 *c* pl. V) ou fragmenté et d'autres éléments deux, trois, quatre fois plus gros, renfermant soit un seul gros noyau à karyosome central (*g* fig. 142) ou en voie d'expulsion chromatique (*e* fig. 142); soit deux ou quatre noyaux circulaires à chromatine tassée contre la membrane (*d* fig. 142). Certains de ces gamètes ont déjà évolué vers la forme mâle et se présentent avec un long rostre et un noyau à chromatine périphérique (fig. 142); d'autres, sans doute des éléments femelles, montrent nettement une mitose de réduction (*f* fig. 142).

Dans le cytoplasme, au milieu d'une quantité énorme de grains chromatiques de toute taille, sont épars un grand nombre de gros noyaux vivement colorés. Ces noyaux sont les uns en mitose anormale, étirés en un gros fuseau qui montre à chaque pôle un prolongement centrosomien en forme de baguette, les autres au repos avec un suc nucléaire très coloré et de gros grains chromatiques disposés en réseau ou en amas stelliformes à leur surface (*a* et *b* fig. 142 pl. V).

Au résumé, ces évolutions pathologiques du processus sexué conduisent à la formation de nombreux gros noyaux stériles et de gamètes atypiques, ordinairement de grande taille, et aux stades les plus divers. Dans ces gamètes, le noyau est souvent en voie de dégénérescence, parfois aussi il est normal, et on peut se demander si les macrosporocystes, que nous avons vus dériver de gamètes plus gros que les gamètes normaux, n'auraient pas pour cause une action modificatrice générale exercée primitivement sur le kyste.

Quoiqu'il en soit, tous les kystes qui présentent ces altérations évolutives sont stériles.

V. Grégarines des Crustacés.

L'évolution des Grégarines des Crustacés est restée très obscure jusqu'à ces derniers temps. On ne connaissait en effet que les kystes gymnosporés intestinaux de la Grégarine du Homard (*Porospora*) et les kystes gymnosporés coelomiques qu'on rencontre dans les divers Crabes. Ces kystes coelomiques, ainsi que l'ont montré Léger et Duboscq, appartiennent non pas aux Grégarines intestinales des Crabes, comme le croyait Frenzel, mais bien aux Grégarines qui sporulent dans les Céphalopodes.

Les divers noms génériques (*Monocystis, Gregarina, Zygocystis, Callyntrochlamis*, etc.), appliqués par divers auteurs à des Grégarines observées dans des Crustacés des groupes les plus variés, (Copépodes, Cirripédes, Nebalia, Amphipodes, Décapodes), sont certainement provisoires, et beaucoup disparaîtront lorsque sera connue la sporulation de ces Grégarines. Ainsi Léger et Duboscq (1907) ont observé les sporocystes des Grégarines si communes dans l'intestin des Décapodes brachyures, en particulier des Frenzelina des *Pachygrapsus.* Or, non seulement ces Grégarines n'ont rien à voir avec les kystes gymnosporés coelomiques que Frenzel leur attribuait, mais, chose plus surprenante, elles sont très éloignées de la *Porospora* du Homard dont on les rapprochait jusqu'à ce jour.

Actuellement on connaît les germes de trois types seulement des Grégarines des Crustacés:

d'abord ceux des Grégarines coelomiques des Crabes (*Aggregata* Frenzel pr. p.). Les germes rayonnant autour des reliquats multiples et qui ne sont pas sans analogie avec les spores gymnosporées de la *Porospora*, ne représentent que les schizozoïtes, et la vraie sporulation s'effectue chez les Céphalopodes (*Klossia* ou *Benedenia* des auteurs). Ces parasites, qui doivent s'appeler *Aggregata*, sont donc des Schizogrégarines hétéroïques.

Puis, les germes de la Grégarine géante du Homard dont les kystes ont été vus par V. Beneden (1869—1870). Schneider (1875) montra la véritable organisation de la spore, uniquement constituée par un amas radié de très petits sporozoïtes sans paroi protectrice (gymnospores).

Enfin, les spores des Grégarines intestinales des Crabes confondues longtemps avec les *Aggregata* précédentes et pour lesquelles Léger et Duboscq (1907) ont proposé le nom de *Frenzelina.*

Les différences notables qui existent entre ces trois types, les seuls connus actuellement, montrent l'intérêt qu'aurait une étude approfondie des Grégarines des Crustacés. Aussi, malgré l'insuffisance de nos observations sur ce sujet, nous en donnerons les résultats, ne serait-ce que pour montrer les problèmes qu'ils soulèvent et les points importants qui restent à élucider.

Aggregata.

De cette curieuse Schizogrégarine, la seule qui soit hétéroïque, nous rappellerons seulement les grandes lignes de l'évolution.

Le crustacé avale la spore émanée du Céphalopode. Celle-ci s'ouvre sous l'action du suc gastrique du nouvel hôte et les sporozoïtes, mis en liberté, traversent de suite l'épithélium intestinal pour s'installer dans la tunique conjonctive sous-jacente. Ils s'y développent en un schizonte globuleux monocystidé, qui au terme de son évolution se résout en de nombreux schizozoïtes groupés radiairement autour de quelques reliquats (fig. 18 texte). Ces sphères de schizozoïtes radiés sont très comparables, tant par leur forme que par leur structure, aux spores gymnosporées de la Grégarine du Homard. La taille seule est très différente. Un groupe radié de schizozoïtes *d'Aggregata eberthi* mesure en effet 30 à 31 μ de diamètre, tandis que chez *Porospora* la spore n'a que 5 à 6 μ.



Fig. 18. Kyste mûr d'*Aggregata eberthi* chez Portunus depurator.

Les schizozoïtes mûrs ne peuvent poursuivre plus loin leur évolution dans le Crabe, où le kyste qui les renferme ne s'ouvre même jamais. Le parasite, pour continuer son cycle, doit passer dans un Céphalopode déterminé, Poulpe ou Seiche. Les sporozoïtes s'installent alors dans les cellules épithéliales de l'intestin de ces nouveaux hôtes; ils gagnent ensuite les couches conjonctives sous-jacentes où ils donnent à la fin de leur croissance, les uns des microgamètes filiformes (Siedlecki 1898), ciliés dans quelques espèces (Moroff 1907), les autres des macrogamètes sphériques. De la copulation de ces deux

éléments résulte (d'après l'interprétation de MOROFF) le sporocyste qui ne s'ouvrira que sous l'action du suc intestinal d'un Crabe.

Ainsi donc, chez les *Aggregata*, la reproduction sexuelle est hautement anisogame, elle n'est possible qu'avec un changement d'hôte et elle aboutit à la formation de spores durables munies d'une paroi résistante.

Ces considérations nous permettront de montrer les analogies qui existent entre les *Aggregata* et les *Porospora.*

Porospora.

Le genre *Porospora* ne comprend actuellement qu'une seule espèce de Grégarine caractérisée par des spores nues, c'est-à-dire d'un type qui serait absolument unique dans tout le groupe des Grégarines, d'où son intérêt très grand.

Porospora gigantea fut, on le sait, découverte en 1869 par E. v. BENEDEN dans l'intestin du Homard. Dans plusieurs travaux successifs (1869, 1871, 1872 a, 1872 b) cet auteur fit connaître la morphologie de la Grégarine adulte et décrivit pour ses premiers stades un développement (cytode générateur) qui n'a pas été confirmé. La formation des kystes serait également très spéciale. E. v. BENEDEN admet que les kystes que l'on rencontre en file dans le rectum des Homards dérivent d'abord d'une sphère unique (individu unique) et que les deux masses arrondies que l'on observe sous un même kyste proviennent de la division d'une seule masse primitive; de telles divisions se continueraient pour donner des chaînes de kystes.

Plus tard, dans sa thèse SCHNEIDER (1875) fit connaître les spores, mais sans les comprendre tout d'abord, puisqu'il leur attribuait une enveloppe poreuse très épaisse, d'où le nom de *Porospora* qu'il proposa pour ce genre spécial.

Ultérieurement (1887), il établit la véritable structure de cette spore en montrant que la prétendue paroi épaisse et striée n'est qu'une couche dense de sporozoïtes nombreux, très petits, disposés radiairement autour d'un reliquat vacuolaire. Il en vint ainsi à penser que les kystes de *Porospora* donnent des sporoblastes qui deviennent directement des Eimeria.

LÉGER (1892) confirma la description de SCHNEIDER relative aux spores de *Porospora.* Il découvrit dans l'intestin des Homards des stades végétatifs très jeunes pourvus d'un épimérite caduc, indice d'un développement comparable à celui des Polycystidées des Arthropodes

et où les phases monériennes décrites par E. v. Beneden ne trouvaient pas leur place. Comme il rencontrait dans les mêmes Homards (Homards de Belle-Isle) des sporadins en conjugaison, il les interpréta comme des accouplements donnant les kystes doubles de *Porospora*. et ainsi, malgré ses gymnospores, *Porospora* semblait évoluer comme une autre Grégarine.

Ultérieurement et de façon brève, Léger et Duboscq (1906) annoncèrent la fréquence, chez *Porospora*, de kystes solitaires dont le développement rappelle celui des *Aggregata* et aboutit à la formation des gymnospores bien connues. Ils ne se prononcent pas sur le sort et la signification des kystes doubles.

Porospora est donc encore classée provisoirement dans cet ordre des Gymnosporées créé pour elle sur des données incertaines. Il importe tant de les compléter que nous publierons les résultats de nos observations malgré leur insuffisance.

Ainsi qu'on le sait, tous les stades végétatifs sont dans l'intestin moyen, tandis que les kystes sont fixés dans les replis chitineux du rectum.

Les plus jeunes stades que nous ayons rencontrés dans l'intestin des Homards sont des corpuscules légèrement arqués, dont les plus petits mesurant 18 μ sont déjà beaucoup plus gros que les sporozoïdes de la gymnospore. Leur noyau est subterminal. Les plus grands ont 25 μ avec un noyau central et leurs deux extrémités sont semblables, l'une étant simplement un peu plus effilée. Leur mobilité est très faible et ils ressemblent à des sporozoïtes *d'Aggregata*. Ils doivent peut-être s'y rapporter, car depuis les recherches de Léger et Duboscq (1908), on sait qu'il existe des kystes *d'Aggregata* dans la paroi de l'intestin moyen du Homard. Notons cependant contre cette interprétation l'accroissement dans la lumière intestinale de ces jeunes stades falciformes.

Nous trouvons ensuite des stades encore très petits, mais mesurant déjà 30 μ. Ceux-là sont sûrement de jeunes stades de *Porospora*. Ils ont les caractères des Grégarines plus grandes, malgré un aspect plus trapu. A la partie antérieure se trouve différenciée une plage protoméritique à gros granules. Couronnée par un épimérite métabolique, tantôt en bouton aplati, tantôt déprimé en ventouse circulaire, et qui est sûrement un appareil de fixation. Ce protomérite déjà vu par Léger (1892) est extrêmement caduc et il est très rare d'observer de tels céphalins libres ou fixés. Ces jeunes stades n'ont plus qu'à grandir et à s'allonger pour devenir les Grégarines adultes. Celles-

ci se présentent, ainsi qu'on le sait, comme des sporadins vermiformes dicystidés, l'épimérite étant d'abord bien distinct du deutomérite. Il nous a paru cependant qu'il n'y avait jamais de véritable cloison et des stades plus mûrs, à l'approche de l'enkystement, apparaissent même comme de véritables Monocystidées, rappelant par leur aspect, bien qu'avec une taille plus grande, les schizontes des *Schizocystis*.

Ces grands sporadins arrivés au début du rectum, commencent à se renfler en se plissant transversalement. Ces plis sont si marqués qu'ils simulent en beaucoup d'endroits de véritables cloisons, isolant des pseudo-segments cytoplasmiques aussi bien dans la région du noyau qu'aux deux extrémités du corps (*a* fig. 20 texte). Mais ce n'est là qu'une apparence et on voit parfois ces pseudo-cloisons disparaître ou se déplacer en se propageant comme des ondes.

De plus, dans la région postérieure du corps, le cytoplasme paraît comme tronçonné en segments courts, plus larges que hauts, et sans que la membrane y participe, bien que cette dernière présente dans cette même région des plissements propres qui ne coïncident pas avec cette sorte de fragmentation cytoplasmique. De tels stades rappellent le *Tæniocystis mira* décrit par Léger chez une larve de Diptère. Et en effet, si l'on coupe en deux le corps d'une Grégarine ainsi plissée, la blessure ne laisse couler que très peu de cytoplasme comme chez *Tæniocystis* et les deux morceaux du parasite continuent de vivre.*)

Ces plissements et renflements diminuent considérablement la longueur de l'animal qui devient peu à peu plus trapu (b fig. 20 texte). Il continue à se contracter, jusqu'à ce qu'il atteigne une forme à peu près sphérique. Préalablement, il se fixe dans le fond d'un pli rectal par sa région protoméritique. Toute la région antérieure et moyenne se condense et la Grégarine qui s'enkyste prend un aspect de têtard dont la queue se replie sur la portion antérieure renflée. Le mucus sécrété au moment de l'enkystement s'étale en couche épaisse sur la région adhérente de la Grégarine et dans le repli rectal qu'elle moule et avec lequel elle s'engrène. Le kyste reste ainsi fixé à la cuticule du rectum jusqu'à complète maturité.

*) Il en est de même d'ailleurs pour les grands sporadins intestinaux qui, sans présenter trace de cloisonnement, se prêtent très bien à la mérotomie. Quand on les coupe, le segment antérieur, qu'il contienne ou non le noyau, progresse même aussi vite et aussi sûrement qu'une Grégarine entière, se détournant, par des contractions, des obstacles qui s'opposent à sa marche. Tout segment dépourvu d'épimérite est, au contraire, incapable de progression et ne peut que se contourner sur place.

Les plis ou sillons profonds, vestiges du processus de contraction, persistent longtemps et ne disparaissent qu'au moment de la formation des spores. Il existe en général un pli équatorial plus marqué que les autres et qui, pour nous, résulte de ce que la Grégarine déjà fortement contractée s'est, pour s'arrondir, repliée en deux à la façon d'un Cloporte.

Ainsi s'explique que ce pli équatorial soit très profond et que de tels kystes examinés superficiellement semblent composés de deux hémisphères séparés et par conséquent formés de deux individus. Sur des coupes l'illusion est encore plus grande, puisque la section transversale de plus de la moitié du kyste peut donner l'apparence

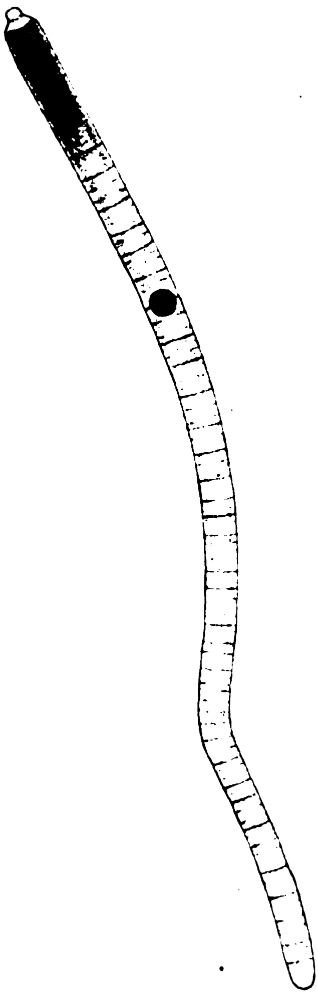


Fig. 19.

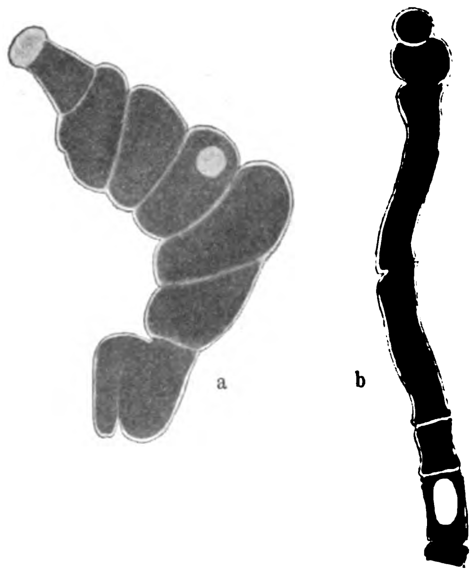


Fig. 20.

Fig. 19. Grégarine du Homard montrant la segmentation de son cytoplasme.

Fig. 20. *Porospora gigantea* au début de l'enkystement. a, Grégarine fortement contractée. b, Grégarine encore filiforme.

de deux Grégarines entièrement distinctes. La série complète des coupes d'un kyste montrera toujours en une zone la fusion des hé-

misphères. Cette curieuse particularité de l'enkystement solitaire explique bien comment VAN BENEDEN a pu croire que les kystes à individu solitaire se segmentaient pour donner les kystes à deux individus.

Notre étude cytologique de l'évolution du kyste solitaire est encore sommaire.

Nous n'avons pas eu jusqu'ici le matériel suffisant pour l'étude complète des premiers stades de multiplication nucléaire. Nous avons vu le premier noyau, d'abord ovoïde, s'étirer en fuseau très allongé selon un plan correspondant au pli principal de la Grégarine qui s'enkyste. Non-seulement la fusion des 2 moitiés repliées est incomplète, mais, là où elle s'est produite, le cytoplasme est tassé et comprimé selon une zone occupée par le noyau et, comme dans toutes les Grégarines mûres, le noyau se laisse déformer par les pressions qu'il supporte. Ce noyau en fuseau ne représente donc pas un noyau en division. Malheureusement nous manquons de tout document précis sur la division de ce noyau et nous passons d'emblée à une chaînette de noyaux qui sont déjà très petits, ce qui laisse penser qu'une grande partie de la substance nucléaire est rejetée au moment de la première division, si celle-ci n'est pas une division multiple. Les noyaux en chaînette s'éparpillent en se multipliant, et, de bonne heure, la Grégarine montre, dispersés par tout le cytoplasme, des petits noyaux ovalaires avec chromatine en plaques périphériques. Les petits corpuscules coniques qui leur sont accolés semblent être les centrosomes (fig. 21 texte).

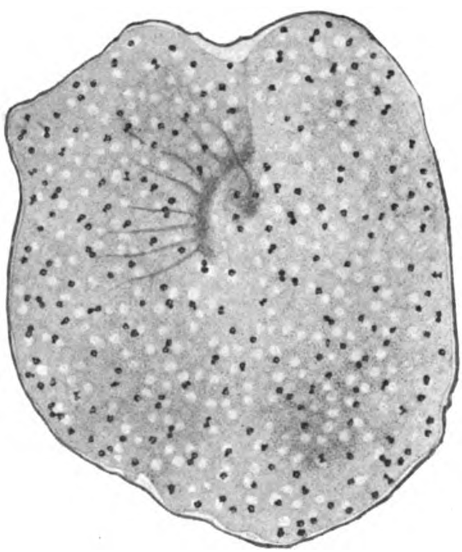


Fig. 21.
Kyste solitaire de *Porospora gigantea* au début de la multiplication nucléaire.

Malgré la petitesse des éléments, beaucoup d'images témoignent que les divisions sont mitotiques, en particulier des figures de deux plaques chromatiques distantes et parallèles, qui sont manifestement des stades d'anaphases.

La multiplication nucléaire se poursuivant, les noyaux deviennent

encore plus petits. D'abord éparpillés dans tout le kyste sans ordre apparent (fig. 22 texte), ils s'ordonnent ensuite en réseau assez régulier à mailles discontinues (fig. 23 texte). A celui-ci succède un réseau

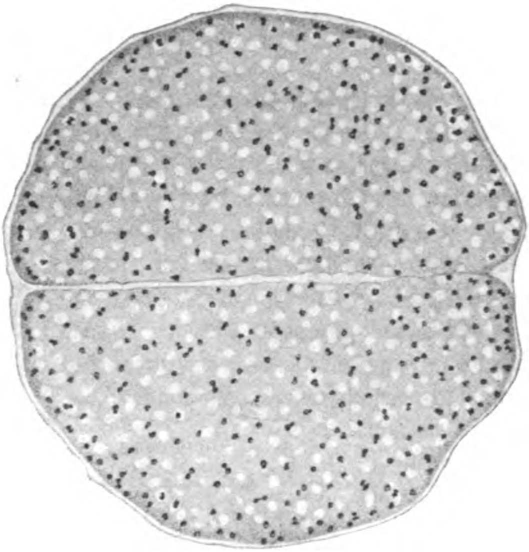


Fig. 22. Kyste solitaire de *Porospora*, simulant un kyste à 2 conjugués, en pleine multiplication nucléaire.

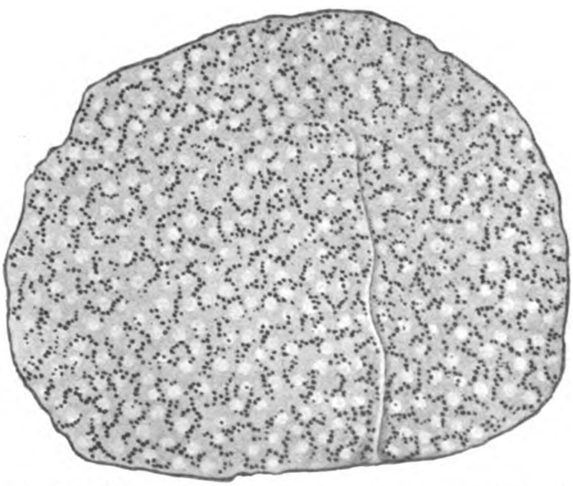


Fig. 23. Kyste solitaire de *Porospora* avec noyaux en réseau discontinu.

à mailles régulières avec deux rangées de noyaux. L'écartement de ces mailles et leur séparation déterminent la formation d'îlots circulaires

bordés de petits noyaux au centre desquels le cytoplasme conserve des caractères finement alvéolaires (fig. 24 texte). La régularité et les dimensions de ces îlots sont loin d'être parfaites et constantes, de sorte que les spores qui en dérivent varient de forme et de dimension; la plupart sont sphériques, mais certaines sont ovoïdes, ou en biscuit, ou contournées en hélice.

On sait depuis Schneider (1887) que ces spores se composent de nombreux petits sporozoïtes, disposés radiairement autour d'un reliquat clair (fig. 25).

La formation de telles spores ne correspond certainement pas à un simple découpage des îlots en autant de segments radiaires qu'il y a de noyaux. Il nous a paru que, comme chez *Aggregata*, le

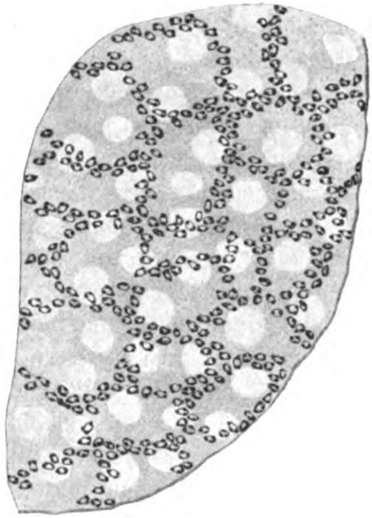


Fig. 24. Portion de kyste solitaire de *Porospora* avec noyaux en réseau régulier et continu.

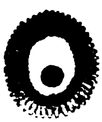


Fig. 25. Gymnospore de *Porospora* très grossie et vue en coupe équatoriale.

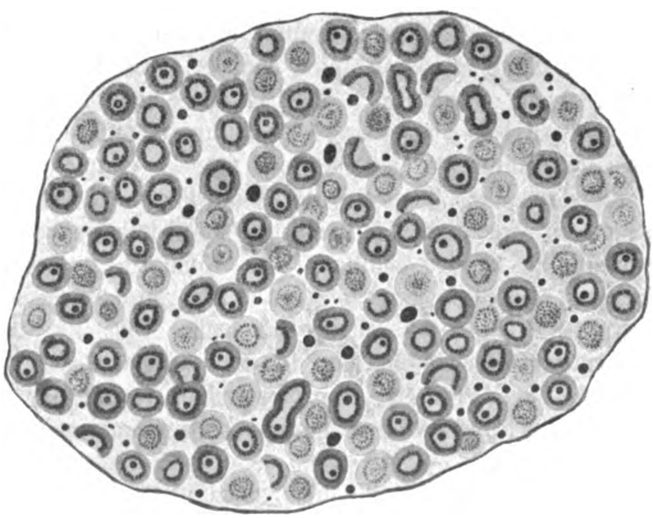


Fig. 26. Kyste de *Porospora* avec spores mûres et balles chromatiques résiduelles. Les spores en vue polaire sont d'aspect très différent des spores en coupe équatoriale.

cytoplasme de chaque sporozoïte est une néoformation qui pousse périphériquement au dessus de chaque noyau. La portion cytoplasmique centrale inutilisée forme un reliquat hyalin dans lequel se voit souvent in vivo quelques granules réfrigents et, sur les préparations colorées, généralement une balle chromatique centrale. Dans le résidu kystique intersporal existent pareillement de nombreuses boules chromatiques plus ou moins régulières (fig. 26 texte). Sur le vivant, ces corpuscules qui sont réfringents, paraissent animés de vifs mouvements browniens après la rupture de la paroi du kyste.

En résumé, ces spores sont caractérisées: par l'absence de paroi protectrice et le grand nombre de sporozoïtes (1500 environ) qui s'explique par leur petitesse et leur tassement en disposition radiée. Morphologiquement, une telle spore n'est comparable qu'aux îlots de schizozoïtes groupés radiairement autour de reliquats, tels qu'on les trouve dans la schizogonie des *Aggregata* (fig. 18 texte), comparaison qui, du reste, n'avait pas échappé à Schneider, puisqu'il rapprochait des Eimeria cette spore de Porospora.

Ces considérations, jointes à tout ce que l'on sait aujourd'hui sur l'évolution des Sporozoaires et en particulier des Schizogrégarines, nous porte à conclure que les kystes solitaires à gymnospores du *Porospora* représentent seulement une phase schizogonique de cette Grégarine.

K y s t e s d o u b l e s. A coté des kystes solitaires à enveloppe mince qui sont les plus communs, existent des kystes à 2 conjugués, pourvus d'une enveloppe plus épaisse. Ils paraissent correspondre d'une façon constante à 2 Grégarines qui fixées au rectum l'une contre l'autre se sont enkystées sous une même enveloppe. Cependant ceci n'explique pas un fait qui nous a frappé et qui est certain: Tandis que dans beaucoup de Homards très infestés tous les kystes sont solitaires, dans d'autres moins infestés on rencontre un grand nombre de kystes doubles. Les Homards à kystes doubles renferment cependant dans leur intestin de grandes Grégarines solitaires pareilles à celles des autres Homards. Nous n'y avons jamais revu ces sporadins accouplés que Léger a rencontrés dans les Homards de Belle-Isle. Peut-être, ces Grégarines vivant par couples et même en chaine représentent-elles une *Frenzelina* voisine de celle des Crabes?

Quant aux kystes doubles qu'on peut trouver dans les Homards de toutes les régions, ils évoluent comme des kystes simples et les 2 Grégarines qu'ils renferment ne peuvent être distinguées à aucun moment de leur évolution des Grégarines enkystées solitairement.

Lorsque les spores sont formées dans les kystes, il est généralement impossible de savoir si elles proviennent de Grégarines uniques ou géminées.

Nous devons donc conclure qu'il existe au moins deux Grégarines différentes chez le Homard, une *Aggregata*, et la *Porospora gigantea* auxquelles il faudra peut-être ajouter une *Frenzelina.*

L'*Aggregata* du Homard, si voisine de l'*Aggregata vagans* des Pagures que nous lui conservons le même nom, a certainement sa sporogonie chez le Poulpe. Elle ne peut être confondue avec la *Porospora* qu'au stade de sporozoïte intestinal, avant l'émigration dans les tuniques conjonctivo-musculaires.

La *Porospora* toujours solitaire n'effectue chez le Homard que sa schizogonie. Tous les kystes simples ou doubles, donnent les gymnospores sans phénomènes de sexualité. La suite de l'évolution devant se passer ailleurs que dans le Homard, nous avons cherché l'hôte énigmatique en essayant d'infester les animaux qui nous paraissaient propices. Nous ne relaterons pas des expériences qui jusqu'ici sont restées sans résultat.[1])

Frenzelina.

On sait que les Grégarines des Crustacés et précisément les Frenzelina sont les Grégarines les plus anciennement connues, puisque dès 1787, Cavolini les découvrait dans les coecums de l'intestin d'un Crabe (sans doute *Pachygrapsus marmoratus*). A la vérité, il ne les comprit guère, puisqu'il les prit pour de petits Ténias à deux segments dont chacun portait un orifice génital — qui n'est autre que le noyau. Il est intéressant de remarquer que dans la représentation qu'il donne de ces prétendus Vers, Cavolini dessine, avec des caractères nettement différents, les deux segments de son Ténia, c'est-à-dire les deux individus d'un même couple. L'un d'eux est renflé dans la région moyenne et effilé postérieurement, tandis que l'autre est presque cylindrique, sans renflement ni atténuation notables. Ainsi, sur ce premier dessin, se trouvent représentés des caractères de différence sexuelle qui sont restés méconnus jusqu'à ces dernières années.

---

[1]) Nous connaissons encore un curieux Sporozoaire parasite de l'intestin du Homard. Il est très localisé et, comme il n'a pour nous aucun rapport avec la *Porospora*, nous le décrirons ultérieurement.

Revus par Rudolphi (1819) les parasites de Cavolini prirent place dans la systématique avec Diesing (1850) qui les rangea dans le genre *Gregarina* de Dufour, classé lui-même parmi les Vers.

Leur étude ne fut reprise que par Frenzel (1885). Il retrouva les Grégarines des Crustacés vues par les anciens auteurs, et fit connaître des espèces nouvelles, mais il se méprit sur leur évolution et son travail n'est à rappeler que pour la morphologie et la répartition de ces parasites.

Depuis, Léger (1901) et Léger et Duboscq (1903 b) signalèrent plusieurs espèces de Grégarines de Crustacés. Ils les confondaient d'abord, comme Frenzel, avec des schizontes d'*Aggregata* concomitants avant d'établir (1906) l'inexactitude de cette manière de voir. Les kystes gymnosporés trouvés dans le coelome des Crustacés représentent la schizogonie des *Aggregata* (*Klossia*, *Benedenia*, *Eucoccidium*), qui forment leurs spores chez les Céphalopodes, tandis que les Grégarines intestinales possèdent des kystes à spores munies d'une paroi résistante, selon la règle générale. En raison de ces faits, Léger et Duboscq (1907) créèrent pour ces Grégarines intestinales le genre *Frenzelina* caractérisé comme il suit:

Trophozoïtes à accouplement précoce du type clepsidrinien. Kystes sans sporoductes. Sporocystes ovoïdes à arête équatoriale. Parasites de l'intestin des Crustacés.

Le genre *Frenzelina* ainsi défini doit englober la plupart des Grégarines Polycystidées des Crustacés qui s'accouplent pour donner des kystes libres intestinaux. Sans doute leur position générique ne pourra être affirmée avec certitude qu'après observation de leurs sporocystes, mais les ressemblances qu'elles présentent avec *F. conformis* autorisent à les placer provisoirement parmi les *Frenzelina*.

Le genre *Frenzelina* comprend ainsi actuellement les espèces suivantes:

Frenzelina conformis Dies.,	parasite de	*Pachygrapsus marmoratus* F.
Fr. proemorsa Dies.,	„ „	*Cancer pagurus* L.
Fr. dromiae Frenzel.	„ „	*Dromia dromia* Olivi.
Fr. portunidarum Frenz.	„ „	*Portunus arcuatus* Leach.
Fr. fossor Léger et Duboscq	„ „	*Pinnotheres pisum* Penn.
Fr. ocellata Léger et Duboscq	„ „	*Eupagurus Prideauxi* Leach.

Nous y ajouterons une Grégarine commune dans *Chtamalus stellatus* et que nous figurons ici sous le nom de *Frenzelina chtamali* n. sp. (fig. 28 texte).

L'étude de la reproduction sexuelle, c'est-à-dire de la sporulation, chez les *Frenzelina*, est d'autant plus intéressante qu'elle est peut-être susceptible d'éclairer l'évolution énigmatique de la *Porospora* dont la forme et l'habitat sont bien analogues, si la sporulation paraît différente.

Nous n'avons malheureusement pas beaucoup de documents sur l'évolution des kystes de *Frenzelina*. Ils sont difficiles à obtenir et se développent mal en culture artificielle. Le peu de documents que nous possédions sur la sexualité de ces Grégarines intestinales des Crustacés est dû à Léger et Duboscq (1907). Leurs recherches se trouveront complétées ici.

L'espèce qui nous a servi pour nos observations est *F. conformis* Dies.

Nous avons rencontré cette Grégarine assez abondamment dans le tube digestif des *Pachygrapsus marmoratus*. qui vivent dans les anfractuosités des rochers gneissiques de Cavalière, sur le rivage de la Méditerranée.

La Grégarine se rencontre la plupart du temps par couples de deux individus. L'accouplement, qui doit s'effectuer de bonne heure, car on trouve des couples de taille très variée, se passe comme chez les *Gregarina* ou Clepsidrines des Insectes, c'est-à-dire que le protomérite du satellite se colle en se déprimant à l'extrémité postérieure du primite. Les couples sont souvent très nombreux dans les longs coecums gastriques dont ils obstruent parfois la lumière jusqu'à l'extrémité distale. A l'oeil nu ou mieux à la loupe, ces coecums envahis sont d'un blanc laiteux, et leur contenu se résout en nombreuses Grégarines lorsqu'on les dilacère avec une aiguille.

C'est certainement dans les coecums que les Grégarines passent la plus grande partie de leur vie végétative, car on n'observe dans l'intestin, avec les kystes, que de rares couples très gros, peu mobiles et voisins de l'enkystement.

L'examen d'un couple âgé de *Frenzelina* montre que les deux individus qui le constituent ne sont pas identiques. Le primite est toujours plus renflé dans son tiers antérieur, plus court et plus gros que l'individu postérieur. Celui-ci au contraire est à peu près cylindrique, de même diamètre que la partie postérieure du primite (fig. 31 texte). Ainsi un couple de dimensions moyennes mesure une longueur totale de 1.050 μ, dont 400 μ pour l'individu antérieur,

et 650 pour le postérieur, la largeur maximum de l'individu antérieur étant 80 μ, celle du postérieur est de 40 μ. On n'observe pas toutefois de différence de colorabilité dans les deux conjoints.

Considéré isolément, chaque individu du couple présente un protomérite dont le sommet est formé d'une lentille réfringente à cytoplasme dense très finement granuleux et bien délimité, le reste du segment montrant un cytoplasme alvéolaire et chargé de granules.

Le noyau situé vers le milieu du deutomérite est ovoïde à paroi épaisse et colorable. Il renferme un suc nucléaire farci de fins grains très peu chromatiques avec un ou plusieurs nucléoles.

Cytologiquement, aucune différence sexuelle n'est manifeste entre les conjoints tandis que, morphologiquement, elle est nettement accusée. Cette différence morphologique se retrouve d'ailleurs avec autant de netteté chez toutes les espèces que nous rattachons au genre *Frenzelina*. Ainsi, par exemple, dans *Frenzelina fossor* Léger et Duboscq (fig. 29 texte) du *Pinnotheres pisum*, et chez *Frenzelina ocellata* Léger et Duboscq de *Eupagurus Prideauxi* (fig. 27 texte) ainsi que chez *F. chthamali n. sp. de Chthamalus stellatus* (fig. 28 texte) nous retrouvons ces mêmes caractères différentiels.

Au moment de s'enkyster, les deux individus du couple qui a gagné l'intestin, sont devenus plus massifs; ils tournent longtemps en se frottant l'un contre l'autre, l'individu postérieur se rabattant sur le premier, et finalement se compriment jusqu'à former une sphère kystique dont ils occupent chacun une moitié. Pendant cette transformation ils ont sécrété un mucus assez abondant qui constitue une enveloppe gélatineuse autour du kyste, en dedans de laquelle se trouve une paroi propre bien différenciée. Peu à peu, les plissements des deux individus comprimés s'effacent et le kyste est formé de deux Grégarines en hémisphères massifs. La dimension moyenne de ces kystes est de 150 μ. C'est à ce stade que les kystes sont expulsés avec les excréments du Crabe, et peuvent poursuivre leur développement dans la mer. Parfois cependant, on observe dans les excréments rejetés des couples non enkystés qui continuent de vivre une trentaine d'heures dans l'eau de mer et seraient sans doute capables de s'enkyster ainsi en dehors de l'intestin s'ils étaient mûrs.

Recueillis et placés dans l'eau de mer, beaucoup de ces kystes meurent avant d'avoir achevé leur évolution. Leur dégénérescence et leur mort sont à attribuer, d'une part aux bactéries banales qui se développent facilement en milieu confiné; d'autre part et surtout, à une Microsporidie qui envahit de bonne heure le cytoplasme des individus conjugués et que nous décrirons plus loin.

Si l'on suit le développement d'un kyste normal, on constate qu'au bout de deux jours, par une température de 18 à 20°, la zone mucilagineuse est disparue et la paroi propre du kyste apparaît très nettement. Les deux hémisphères ne présentent pas le même aspect: l'un plus sombre est finement granuleux et montre à sa surface de petites élevures qui sont l'ébauche des gamètes mâles; l'autre plus clair et plus rétracté laisse voir de nombreux petits corps ovoïdes ou subsphériques, que nous considérons comme des gamètes femelles. Ceci nous indique qu'il y a vraisemblablement une différence sexuelle entre gamètes, opinion appuyée par l'observation que nous avons faite de gamètes mobiles. Les coupes montrent d'ailleurs une différence constante dans la colorabilité des cytoplasmes des deux individus d'un même kyste. Nous n'avons pas les matériaux pour donner une évolution complète de ces kystes. Signalons que la multiplication des noyaux s'effectue assez lentement, à l'encontre de ce que l'on observe chez *Porospora*. On trouve au début de la multiplication seulement quelques gros noyaux avec un centrosome très net.

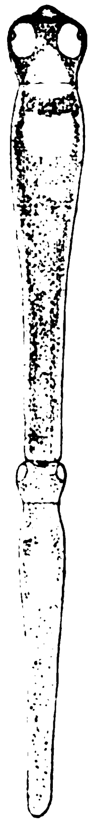


Fig. 27.

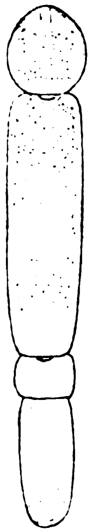


Fig. 28.

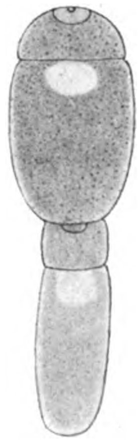


Fig. 29.

Fig. 27. Couple de *Frenzelina ocellata* Léger et Duboscq.

Fig. 28. Couple de *Frenzelina chthamali* n. sp.

Fig. 29. Couple de *Frenzelina fossor* Léger et Duboscq.

Au bout de trois à quatre jours les kystes sont mûrs. Les spores qui les remplissent sont éparses au milieu de nombreuses

granulations résiduelles fines et incolores, parsemées de gouttelettes jaunâtres et mêlées à quelques gamètes stériles. Nous n'avons pas vu d'appareil de dissémination et les sporocystes doivent être mis en liberté par éclatement du kyste.

Les sporocystes de *Frenzelina* sont munis d'une paroi épaisse et colorable, apparemment unique, mais légèrement dépressible, ce qui la rend chiffonnée sur les préparations. Leur forme est ellipsoïde avec un léger renflement équatorial en biseau. Ils mesurent 6 μ 4 × 5 μ.

Le sporocyste mûr montre huit sporozoïtes disposés selon des méridiens ou tordus en spirale et groupés autour d'un reliquat central formé de cinq ou six granules brillants (fig. 30 texte).

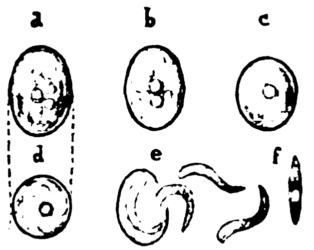


Fig. 30.
Sporocystes de *Frenzelina conformis*. × 1800. — a, b, Macrosporocystes. c, Microsporocyste. d, Macrosporocyste, vu par un pôle (coupe optique équatoriale). e, Spore éclatée par pression pour montrer les sporozoïtes. f, Sporozoïte incomplètement développé et provenant d'un microsporocyste.

Sorti du sporocyste, le sporozoïte est un vermicule allongé, un peu plus long que la spore avec une extrémité atténuée en rostre, l'autre extrémité obtuse renfermant le noyau.

Avec ces sporocystes ellipsoïdes caractéristiques (macrosporocystes), on rencontre, dans la plupart des kystes, des sporocystes plus petits (microsporocystes) sphériques ou subsphériques. Leur dimension est de 5 μ × 4 μ. Ces microsporocystes nous ont paru n'avoir que quatre sporozoïtes très courts et naviculaires, dont le noyau central semble indiquer des éléments avortés.

Afin de ne pas faire un groupe nouveau pour des Grégarines dont le développement n'est pas connu dans tous ses détails, Léger et Duboscq ont rapproché les *Frenzelina* des Clepsidrinides. Cela sans doute ne signifie pas que les Grégarines des Crustacés sont voisines des *Gregarina* à sporoductes, mais plutôt des formes sans sporoductes comme *Hyalospora* et *Cnemidospora*. Tout en reconnaissant cette parenté, nous sommes portés à croire que les véritables affinités des *Frenzelina* sont plutôt avec les *Stenophora*, classés d'ailleurs longtemps dans cette même famille des Clepsidrinides, et que Léger et Duboscq ont isolés depuis en une nouvelle famille, celle des

Sténophorides. De la première partie du développement des *Frenzelina*, on sait peu de chose, si ce n'est que certaines espèces comme celle du Pinnothère, *Frenzelina fossor*, ont des stades intra- ou sous-épithéliaux. Or le développement intra-épithélial est un caractère des Sténophorides, et entraîne comme conséquence la réduction ou l'absence de l'épimérite. Sans parler de l'aspect général du corps et des caractères cytologiques, les *Frenzelina*, avec leurs sporocystes ellipsoïdaux à crête équatoriale, sont bien voisines de certaines Sténophorides, comme *Stenophora iuli*; et les affinités qui existent entre les Crustacés et les Diplopodes appuient encore cette manière de voir.

Que cette position systématique soit définitive, nous ne le pensons pas trop. Elle exprime dans notre esprit les parentés les plus proches; mais nous avons tendance à croire que les *Frenzelina*, quand elles seront mieux connues, constitueront une famille à part.

Microsporidie parasite des Frenzelina.

En appendice à ce chapitre, nous relaterons nos observations sur la Microsporidie qui parasite *Frenzelina*. Elle présente un double intérêt. D'abord c'est la première Microsporidie qui soit signalée avec certitude chez un Protozoaire [1]) et de plus elle exerce manifestement une action pathogène sur la reproduction de son hôte. A ce titre elle trouve sa place dans un travail sur la sexualité des Grégarines.

La Microsporidie de *Frenzelina* se rencontre dans des kystes de tout âge, dans des Grégarines adultes accouplées et même dans les jeunes couples qui vivent dans les coecums intestinaux. Il s'agit donc d'une Microsporidie qui pénètre de bonne heure dans le cytoplasme des Grégarines, s'y multiplie et finalement entre en sporulation au moment de la reproduction sexuelle de l'hôte. Ordinairement, presque toutes les Grégarines d'un même Crabe sont infestées, mais tous les Crabes sont loin d'héberger des Grégarines malades. Il importe en outre de noter que nous n'avons jamais vu les tissus

[1]) Stein (1867) a figuré dans un *Stentor* des corps brillants qu'il rapporta à des parasites, après avoir pensé qu'il avait affaire à des spermatozoïdes. Balbiani (1883), citant cette observation, fut convaincu qu'il s'agissait de Microsporidies. Nous en avions vu nous-mêmes dans une *Paramœcie*, puis dans un *Pileocephalus* des larves de *Limnophilus rhombicus*; mais nous n'avions pu établir avec certitude leur nature microsporidienne.

du Crabe lui-même envahis par la microsporidie, quelque intense que soit l'infestation microsporidienne des Grégarines qu'il héberge.



Le parasite est facile à déceler sur des préparations colorées. A un faible grossissement, il apparaît sous forme de taches ou traînées chromatiques qui simulent des chromidies et qui sont des amas ou colonies de nombreux stades végétatifs uninucléés. Avant l'enkystement des Grégarines, on trouve le plus souvent une colonie dans le protomérite, une autre en avant du noyau, qui n'est jamais envahi, et une autre à l'extrémité postérieure de la Grégarine (fig. 31 texte). Cette distribution n'est plus reconnaissable dans les kystes où les parasites plus nombreux sont plus éparpillés (fig. 32).

Chaque stade uninucléé est ovoïde et de très petite taille. Plongé dans le cytoplasme grégarinien, il s'y multiplie activement par schizogonie binaire et

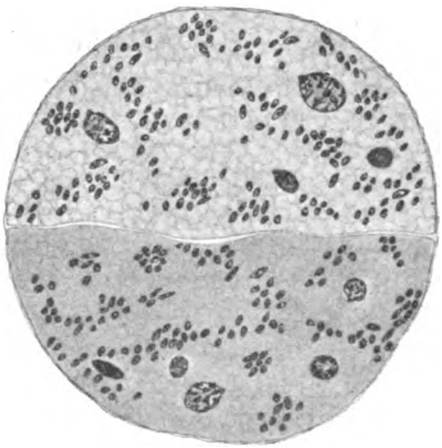


Fig. 31. Fig. 32.

Fig. 31. Couple de *Frenzelina conformis* Dies. infesté par *Nosema frenzelinæ* n. sp.
Fig. 32. Kyste de *Frenzelina conformis* Dies. infesté par *Nosema frenzelinæ*.

donne finalement les colonies à nombreux éléments qui forment des plages chromatiques dans les diverses régions de la Grégarine signalées plus haut. Au terme de l'évolution, chaque élément devient le point de départ d'une spore. Les spores sont ainsi formées séparément et jamais aux dépens d'un trophozoïte multinucléé. Il s'agit donc là d'une Microsporidie monosporée rappellant celle que Pérez (1905) a signalée chez le *Carcinus mænas* et ren-

trant par conséquent dans le genre *Nosema*. Nous l'appellerons *Nosema frenzelinæ* n. sp.

Les spores de *Nosema frenzelinæ* sont extrêmement petites, leur longueur moyenne n'excédant pas 2 μ 8. Néanmoins, on distingue leur capsule dont le filament spiral dévaginé atteint 25 μ, et comme leur pénétration par les colorants est relativement aisée, on peut voir en outre les deux noyaux souvent contigus du sporogerme, ainsi que, sur la paroi, deux points colorés qui représentent les noyaux des cellules valvaires (fig. 33 texte). Cette structure sporale de *Nosema frenzelinæ* s'accorde donc avec celle que Léger et Hesse (1907 a et b) ont décrite pour *Coccomyxa Morovi* et pour *Nosema bombycis* et que Mercier (1908) a observée peu après dans *Thelohania Giardi*.

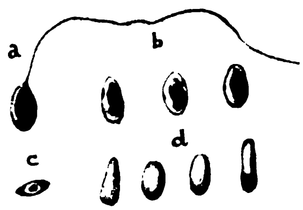


Fig. 33.
Nosema frenzelinæ. × 2000.
a, Spore avec filament dévaginé. b, Spores colorées pour montrer les différents noyaux. c, Stade végétatif. d, Diverses formes de la spore mûre in vivo.

En se multipliant à l'état végétatif, la Microsporidie envahit progressivement le cytoplasme de la Grégarine sans jamais, semble-t-il, s'attaquer au noyau. Malgré leur maladie, les Grégarines continuent de croître et, au terme de leur croissance, les couples parasités s'enkystent tout comme les Grégarines indemnes pour effectuer leur gamétogonie. Les noyaux des Grégarines enkystées poursuivent leur division et seule est empêchée la fin de l'évolution, c'est-à-dire la formation des gamètes et leur conjugaison. C'est là une destruction des Grégarines sexuées qu'on peut interpréter comme une phénomène de castration parasitaire chez un Protozoaire. Le parasite se substituant à son hôte termine son cycle, arrive à la sporulation et le kyste grégarinien devient ainsi un kyste microsporidien.

Les spores de la Microsporidie, n'apparaissant qu'après le rejet des kystes à l'extérieur, doivent sans doute revenir avec les aliments contaminés dans le tube digestif des Crabes pour infester à nouveau les jeunes Grégarines.

VI. Conclusions générales.

En nous appuyant sur les recherches que nous venons d'exposer ici et, en outre, sur des observations qui n'ont pas pu trouver leur place dans ce mémoire, nous croyons pouvoir tirer les conclusions suivantes:

Grégarines adultes. Dans certaines espèces de Grégarines, notamment chez *Nina*, l'individu adulte montre dans sa structure cytoplasmique des changements précoces et notables qui déterminent la maturité sexuelle, à savoir: 1° l'émission dans le cytoplasme de grains chromatoïdes d'origine nucléaire, coïncidant avec une vacuolisation intense de la Grégarine, laquelle augmente à ce moment notablement de volume; 2° la variation de chromaticité du cytoplasme soit par l'apparition de grains nouveaux, soit par la transformation chimique des granules préexistants. A ce stade et par conséquent avant l'accouplement, chez *Nina*, on peut déjà reconnaître le mâle à la présence sous la cuticule de la région antérieure, de corpuscules lamelleux ou de bandelettes colorables comme le mucus périphérique. Cette particularité n'a été observée par nous que chez les Dactylophorides.

Si, au stade adulte, *Nina* ne nous a montré que des différences sexuelles d'ordre cytologique, nous en avons au contraire observé de très nettes d'ordre morphologique chez certaines *Gregarina* et surtout chez les *Frenzelina* où les deux individus d'un même couple n'ont pas le même aspect, l'antérieur étant toujours plus renflé et plus volumineux que le postérieur. Malheureusement nous n'avons pu définir le sexe respectif des deux conjugués, n'ayant pas suivi leur développement sans lacune.

Attraction sexuelle. L'attraction sexuelle des Grégarines, qui a son terme dans l'accouplement kystique, se manifeste à des degrés fort variables selon les espèces.

Chez les unes, elle est très précoce; ainsi chez les *Gregarina* et les *Frenzelina*, des individus très jeunes sont déjà accouplés. Chez d'autres elle se fait sentir quelque temps avant l'enkystement (certaines *Monocystidées*, *Lithocystis*, *Gonospora*, etc.); chez d'autres elle n'a lieu qu'au moment même de l'enkystement (*Nina*, *Stylorhynchus*, *Actinocephalides*, etc., c'est-à-dire chez toutes les Grégarines qui se conjuguent par leurs pôles antérieurs). Chez d'autres enfin, elle ne semble pas exister pour les gamontes (*Aggregata*).

Or, maintenant que nous connaissons les gamètes de ces différentes formes, nous voyons que le degré d'affinité sexuelle entre gamontes n'est nullement en rapport direct avec la différenciation morphologique des gamètes. Ainsi les *Nina*, à gamètes le plus hautement différenciés, ne manifestent qu'une attraction sexuelle faible et tardive, tandis que les *Gregarina*, qui sont presque isogames, s'accouplent au contraire de très bonne heure.

Enkystement. L'enkystement chez les Grégarines est précédé d'une contraction des conjoints, qui se continue encore quelque temps à l'intérieur du kyste et qui s'accompagne d'une expulsion de substance d'abord mucoïde, puis liquide.

Ces phénomènes de sécrétion, qui transforment ainsi le cytoplasme aqueux du sporadin mûr en un cytoplasme très dense caractéristique des individus enkystés, concourent d'une part à la formation du kyste et, d'autre part, facilitent la copulation des gamètes. On peut distinguer trois temps dans ce processus: 1° pendant les frôlements et mouvements qui préludent à l'enkystement, expulsion d'un mucus de plus en plus dense formant la zone mucilagineuse du kyste; 2° le couple étant devenu sphérique, sécrétion d'une couche mucoïde mince, mais beaucoup plus dense et résistante, qui formera la paroi propre du kyste; 3° temps d'arrêt dans le phénomène, et contraction des conjoints entrainant l'expulsion d'un liquide aqueux intrakystique, qui remplira le copularium où vont évoluer les gamètes.

Différenciation cytologique des conjoints. Dans le kyste de *Nina* et chez les autres *Dactylophorides* les deux conjoints montrent des différences notables dans la structure du cytoplasme. D'abord, dans la colorabilité générale. Le cytoplasme du mâle se colore plus intensivement, et ceci est dû à plusieurs causes: présence d'un hyaloplasme muqueux infiltrant tout le cytoplasme et le rendant moins transparent, cytoplasme plus dense que chez la femelle avec alvéoles plus petits et granulations plus nombreuses. Enfin des grains spéciaux inter- et intra-alvéolaires diffèrent de forme et de nature dans les deux sexes. On retrouve en outre, dans la Grégarine mâle enkystée, la plage de lamelles mucoïdes colorables, signalée plus haut dans le sporadin mâle et qui se trouve au voisinage du plan de séparation pendant la première partie du développement (fig. 40s pl. III).

Chez *Gregarina* ces caractères différentiels sont moins accusés, mais existent cependant assez nettement, en particulier chez certaines espèces comme *G. polymorpha*, où l'on voit également une légère,

mais constante différence de structure et de colorabilité cytoplasmique dans les deux conjoints.

Nous avons constaté le même fait chez les *Frenzelina*, les Actinocéphalides, les Ménosporides (fig. 78 pl. IV), et certains *Monocystis* (*Stomatophora coronata*). D'ailleurs Brasil, chez *Urospora* et *Gonospora*, a signalé la différence de taille des alvéoles et de colorabilité du cytoplasme des conjugués, et Siedlecki chez *Lankesteria ascidiae* a noté aussi une différence d'affinité pour les colorants dans les deux Grégarines du kyste: ce qui nous porte à considérer le phénomène comme général, mais plus ou moins accusé selon le degré plus ou moins prononcé de l'hétérogamie.

Premier fuseau. Il est certain que la formation du premier fuseau dérivant du noyau primaire varie avec les espèces de Grégarines. On sait que tantôt la chromatine se met directement au fuseau dans le noyau primitif, avec plaque équatoriale se formant d'emblée (*Monocystis* d'après Wolters, Cuénot, Brasil; *Clepsidrines* d'après Schnitzler), tantôt le noyau primitif se désagrège d'abord en perdant sa membrane et dans l'aire chromatique qui en résulte apparaît un petit fuseau (Siedlecki). D'après Schellack, ce petit fuseau dérive d'un micronoyau au repos, qui s'est formé à l'intérieur du noyau primitif avant que celui-ci n'ait perdu sa membrane.

Chez *Nina*, le micronucleus s'ébauche dans le noyau primitif. Il ne se constitue complètement qu'après désagrégation de ce noyau primitif, et aux dépens d'une très petite partie de sa chromatine et de ses nucléoles (fig. 9 à 12 pl. I). Par conséquent la reconstitution d'un micronucleus aux dépens du noyau primaire ne représente pas une séparation rigoureuse de l'idiochromatine et de la trophochromatine. Le petit noyau de reconstitution contient toujours de la trophochromatine. Léger et Duboscq (1908) ont fait connaître un processus analogue chez *Aggregata* au début de la schizogonie, et ils ont conclu comme nous à l'absence de chromidium karyogène chez les Grégarines. Signalons en outre la présence du noyau protoméritique observé seulement chez *Nina*. Il ne joue aucun rôle dans les phénomènes sexuels.

Multiplication nucléaire. Chez la plupart des espèces étudiées, les mitoses de multiplication montrent un appareil centrosomien, formé d'un cône de substance réfringente („cône d'attraction" de Brasil) à sa partie terminale et se prolongeant à sa base par des fibres qui se jettent tangentiellement sur la membrane. Le sommet est occupé par un centriole d'où semble partir une fibre axiale. Au moment de la division, centriole et cône se divisent et

s'écartent l'un de l'autre sans quitter la membrane nucléaire et le fuseau se constitue un peu avant que les deux centrioles-fils aient atteint une position diamétralement opposée. Ainsi, comme chez certains Champignons (Swingle), les centrosomes sont toujours adhérents à la membrane nucléaire, dont ils semblent tirer leur origine.

Il n'y a pas de véritable fuseau central, c'est-à-dire de fuseau à fibres continues d'origine centrosomienne. Le fuseau à fibres continues, qui ne se forme que plus tard, est d'origine nucléaire et porte les chromosomes.

Dans toutes les espèces que nous avons étudiées, nous avons cru compter quatre chromosomes, mais nous n'avons pu établir d'une façon certaine si l'élément appelé par Léger et Duboscq „chromosome axial" (chromosome impair ou accessoire de Schellack) possédait une individualité propre. Ce chromosome axial existe identique dans les deux sexes et se distribue également aux noyaux fils; par conséquent on ne peut lui attribuer de signification dans la différenciation sexuelle, et il serait imprudent de l'homologuer au chromosome accessoire des spermatocytes d'Insectes et Myriapodes.

L'ensemble des processus de la gamétogenèse, c'est-à-dire multiplication des noyaux et découpage du cytoplasme, se manifeste avec des caractères d'autant plus différents dans l'un et l'autre sexe que l'hétérogamie est plus intense. Ainsi chez *Nina* et chez *Aggregata*, l'orientation des noyaux et leur répartition dans le cytoplasme sont de bonne heure très différentes chez le mâle et chez la femelle, alors que, chez *Gregarina*, elles sont identiques jusqu'au moment de la mise en liberté des gamètes.

Gamétogenèse. Chez tous les Actinocéphalides étudiés par nous (*Geneiorhynchus*, *Hoplorhynchus*, *Pileocephalus*), la Grégarine forme des gamètes comme chez *Stylorhynchus*. Elle se découpe successivement en boudins, lobes et lobules dont le dernier terme donne directement les gamètes.

Il nous paraît rationnel de comparer cette dissociation du corps de la Grégarine à une schizogonie qui se manifeste brusquement à la fin de l'évolution végétative. Les lobules gamétogènes seraient des schizozoïtes terminaux qui, nourris par l'abondante réserve accumulée par la Grégarine durant cette vie végétative, sont en effet comparables aux gamontes de certaines Schizogrégarines des Arthropodes, telles que *Schizocystis* et *Ophryocystis*.

Et si, comme il est logique, nous considérons les espèces à schizogonie comme des formes primitives, on est amené à penser que cette lobulation du corps au cours de la gamétogenèse est un carac-

tère archaïque et, de fait, nous ne la trouvons plus chez des formes très évoluées à gamètes fortement différenciés comme les *Nina* et les autres Dactylophorides.

On conçoit ainsi que, dans les Schizogrégarines vraies, plus la schizogonie est prolongée, plus elle aboutit à des gamontes de petite taille, le terme ultime étant atteint par *Ophryocystis* dont les gamontes ne donnent plus qu'un seul gamète.

A la suite de nos observations sur de nombreuses espèces de Grégarines appartenant à des familles diverses, notamment Dactylophorides, Actinocéphalides, Ménosporides, Clepsidrinides, etc., nous croyons que l'anisogamie est la règle chez les Grégarines. Seul, l'*Ophryocystis*, Schizogrégarine, est isogame.

Mais cette anisogamie est de degré très variable selon les familles. Intense chez les Dactylophorides, ainsi que Léger et Duboscq l'ont montré les premiers chez *Nina*, elle est encore très accentuée chez les Actinocéphalides, Stylorhynchides, Ménosporides, à peine marquée chez les Clepsidrinides et les Monocystidées en général. Nous en arrivons à concevoir l'anisogamie comme primitive chez les Grégarines. Mais il importe de préciser les divers types d'anisogamie qu'on observe dans ce groupe, car ils forment là une série des plus intéressantes.

On peut en effet considérer dans les gamètes: la forme générale, le noyau, le cytoplasme et le centrosome.

Dans un premier cas les gamètes ont même forme, même taille, même noyau, c'est là l'isogamie des *Ophryocystis*.

Tantôt les noyaux et la taille sont semblables, le gamète mâle diffère du gamète femelle seulement par la présence d'un flagelle: c'est le cas des Actinocéphalides et des Ménosporides où nous avons montré l'existence de gamètes mâles flagellés.

Nous pensons que c'est là une forme primitive de gamète grégarinien de laquelle dérivent en différenciation progressive, l'hétérogamie excessive des Dactylophorides à gamète mâle très petit, à noyau condensé; et, par une régression, qui est fréquente en raison du voisinage forcé des gamontes dans le kyste, l'hétérogamie peu accentuée des *Gregarina*, où le flagelle est très réduit et de certains *Monocystis* où il est complétement disparu. Mais chez ces *Monocystis*, Brasil a montré des différences dans la taille et les caractères nucléaires et centrosomiens qui expriment encore une anisogamie évidente.

Une telle évolution peut aussi conduire à une isogamie secondaire et c'est ainsi que nous interprétons le cas de l'*Ophryocystis*.

Nous avons revu la réduction chromatique des gamètes découverte par Paehler et retrouvée par Schnitzler, mais seulement chez les Clepsidrines, où ces auteurs l'ont observée. Toutes les espèces de *Gregarina* que nous avons étudiées (*G. Munieri*, *blattarum*, *chrysomelae* etc.), se comportent à ce point de vue, comme l'espèce *G. ovata* étudiée par Paehler. Toutefois, les espèces observées par nous montrent nettement l'expulsion de deux corps de réduction, au lieu d'un seul signalé par les auteurs précédents. Nous n'avons rien vu de semblable dans aucune autre famille de Grégarines où sans doute le phénomène se manifeste différemment. C'est là une question importante qui demande de nouvelles recherches.

Quant au stade de gamètes mobiles signalé pour la première fois par Schneider sous le terme de „danse de sporoblastes", nous pouvons affirmer qu'il existe chez tous les Actinocéphalides sensu lato, les Clepsidrinides, les Dactylophorides et les *Frenzelina*, avec plus ou moins d'activité selon les espèces et surtout selon le degré de différenciation des gamètes.

Gamètes. Le gamète mâle est le seul gamète ayant une mobilité propre. Chez tous les Actinocéphalides sensu lato, comme chez les Stylorhynchides, le spermatozoïde est piriforme avec un rostre antérieur et un long flagelle caudal. Chez les Dactylophorides, le spermatozoïde très petit est virguliforme avec un flagelle court qui se prolonge sur le corps en membrane ondulante. Chez les Clepsidrinides, le flagelle sans mouvement propre est en régression, très éphémère et le corps muni d'un rostre court et métabolique. Enfin chez toutes les Actinocéphalides et les Clepsidrinides, de même que chez les Stylorhynchides, nous avons observé deux sortes de spermatozoïdes.

Quant aux gamètes femelles, toujours immobiles, ils sont le plus souvent sphériques (Stylorhynchides, Actinocéphalides, Clepsidrinides), parfois ovoïdes (Dactylophorides).

Dans toute la famille des Dactylophorides, le gamète femelle seul est chargé de réserves et fournit tout le cytoplasme de la copula. Chez les Clepsidrinides, les gamètes mâles et femelles, de même taille et de même constitution, sont hyalins c'est-à-dire très pauvres en réserve. Chez les Actinocéphalides comme chez les Stylorhynchides, le gamète mâle et le gamète femelle de même taille sont également chargés de nombreux et gros grains de réserve et concourent dans la même mesure à la formation de la copula.

Fécondation. Chez toutes les Grégarines, la fécondation

consiste dans l'union totale des gamètes: fusion des cytoplasmes, fusion des noyaux et probablement fusion des centrosomes.

Chez *Gregarina*, le noyau des gamètes au moment de la copulation, est étiré comme un fuseau et renferme deux sortes de chromatine, une chromatine très colorable accumulée à l'un des pôles et une chromatine achromatique occupant tout le reste du noyau. Ces deux chromatines s'unissent chacune à chacune, après quoi les deux centrosomes se fusionnent. Ce n'est qu'au moment de la première mitose que les deux chromatines se confondent pour former un spirème colorable.

Copula. Après l'union des gamètes et de leur noyau, il y a un arrêt dans la multiplication. Pendant le temps qui s'écoule entre la formation du synkaryon et la première division nucléaire, la copula change de forme et prend celle du sporocyste définitif. A ce sujet, nous avons montré que chez les Ménosporides où le sporocyste a une forme si particulière, la copula d'abord sphérique, s'étire ensuite en fuseau, puis se courbe en croissant, et ce n'est qu'après cette transformation complète que commence la première division nucléaire. De même chez les Actinocéphalides et les Acanthosporides, la forme biconique lisse ou épineuse se manifeste déjà alors que la copula ne possède encore qu'un noyau unique, refoulé contre la paroi.

Chez toutes les espèces que nous avons étudiées, les huit noyaux des sporozoïtes résultent de trois mitoses successives de noyau de copulation. Les sporozoïtes formés ont leur noyau postérieur et leur longueur est au moins égale à celle du sporocyste.

Parasites des kystes. On connaissait depuis déjà assez longtemps chez les Grégarines des parasites tels que les *Metchnikovella* de Caullery et Mesnil; mais on n'avait jamais étudié leur action sur la reproduction sexuée de leur hôte.

En décrivant une Microsporidie nouvelle, parasite de *Frenzelina*, *Nosema Frenzelinae* n. sp., nous avons montré qu'elle n'empêche pas l'attraction sexuelle et par conséquent l'accouplement, mais qu'elle peut, lorsqu'elle est abondante, empêcher la formation des gamètes soit dans les deux conjugués soit dans un seul, et par conséquent, amener la stérilité du couple auquel elle se substitue en quelque sorte, en sporulant à son lieu et place.

On sait aussi que, très souvent, les kystes de Grégarines que l'on cherche à faire développer dans l'eau sont envahis par des Champignons saprophytes, qui les détruisent et qui sporulent à leur intérieur; mais les rapports de ces Champignons avec le con-

tenu kystique n'ont jamais été étudiés. Nos observations montrent que, dans les kystes de *Nina*, un Champignon à filaments non cloisonnés et ramifiés, indéterminable sans culture, pénètre parfois dans les conjugués où il développe son mycelium. Fait curieux, c'est toujours le mâle qui est atteint le premier. La stérilité du kyste en est la conséquence.

Un certain nombre d'auteurs, Siedlecki, Cuénot, Léger, etc., ont cité également des cas où l'un des conjoints dégénère dans le kyste tandis que l'autre poursuit sa gamétogenèse. Il serait intéressant de rechercher si, dans ces cas, le processus a également pour cause le parasitisme et de déterminer le sexe du conjoint qui meurt.

Index bibliographique.

Beneden, E. van (1869): Sur une nouvelle espèce de Gregarina désignée sous le nom de Gregarina gigantea. Bull. Ac. Roy. Belg. S. 2 T. 28.

— (1871): Recherches sur l'évolution des Grégarines. Bull. Ac. Roy. Belg. T. 31.

— (1872a): Remarks on the Structure of the Gregarine. Quart. Journ. Micr. Sc. N. S. XII.

— (1872b): Sur la structure des Grégarines. Bull. Ac. Roy. Belg. T. 33.

Berndt, A. (1902): Beitrag zur Kenntnis der im Darme der Larve von Tenebrio molitor lebenden Gregarinen. Arch. Protistenk. Bd. 1.

Brasil, L. (1904): Contribution à la connaissance de l'appareil digestif des Annélides polychètes. L'épithélium intestinal de la Pectinaire. Arch. Zool. exp. (4) T. 2.

— (1905a): Recherches sur la reproduction des Grégarines monocystidées. Arch. Zool. exp. (4) T. 3.

— (1905b): La genèse des gamètes et l'anisogamie chez les Monocystis du Lombric. C. R. Ac. Sc. Paris T. 140.

— (1905c): Nouvelles recherches sur la reproduction des Grégarines Monocystidées. Arch. Zool. exp. (4) T. 4.

— (1908): Le genre Doliocystis. C. R. Ac. Sc. T. 146.

Bütschli, O. (1882): Sarkodina und Sporozoa. Bronn's Klassen u. Ordnungen des Tierreichs. Bd. 1.

Caullery et Mesnil (1899): Sur l'évolution d'un groupe de Grégarines à aspect nématoïde, parasites des annélides marines. C. R. Soc. Biol. 7. Janv.

— (1900): Sur un mode particulier de division nucléaire chez les Grégarines. Arch. Anat. micr. T. 3.

— (1905): Recherches sur les Haplosporidies. Arch. Zool. exp. (4) T. 4.

Cavolini, F. (1787): Memoria sulla Generazione dei Pisci e dei Granchi. (Napoli.)

Cecconi, J. (1902): De la sporulation de la „Monocystis agilis" Stein. Arch. Anat. micr. T. 5.

Chatton (1906): Evolution et position systématique des Amœbidium. Arch. Zool. exp. (Notes et revue.)

Crawley (1902): The progressive Movement of Gregarines. Proc. of the Acad. of Natur. Sc. Philadelphia.

Cuénot, L. (1897); L'épuration nucléaire au début de l'ontogenèse. C. R. Ac. Sc. Vol. 125.

— (1899): Sur la prétendue conjugaison des Grégarines. Bibliogr. anat. Nancy T. 7.

— (1901): Recherches sur l'évolution et la conjugaison des Grégarines. Arch. de Biol. T. XVII.

Diesing (1890—91): Systema Helminthum. Vindobonæ 2 vol. in-8°.

Dogiel (1908): Catenata, eine neue Metozoengruppe. Zeitschr. wiss. Zool. Bd. 89.

van Ecke (1892): Über die Sarcosporidienkrankheit unter den Büffeln auf Sumatra. Jaarsverlag pathol. Inst. Weltevreden Batavia.

Frenzel, J. (1885): Über einige in Seetieren lebende Gregarinen. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 24.

Giard (1872): Recherches sur les Ascidies composées ou Synascidies. Arch. de Zool. exp. (1) T. 1.

— (1873): Contribution à l'histoire naturelle des Synascidies. Arch. de Zool. exp. (1) T. 2.

Hartmann, M. (1907): Das System der Protozoen. Arch. f. Protistenk. Bd. 10.

Henneguy, F. (1887): Formation des spores de la Grégarine du Lombric. C. R. Soc. Biol. T. 4.

— (1889): Idem. Ann. micrographie T. 1.

— (1908): Sur une Grégarine parasite des Ophélies. C. R. A. F. A. S. Congrès de Reims II.

Hertwig, R. (1907): Über den Chromidialapparat und den Dualismus der Kernsubstanzen. Sitz.-Ber. d. Ges. f. Morphol. und Physiol. München.

Keysselitz (1908): Die Entwicklung von Myxobolus Pfeifferi Thélohan. I. Teil. Arch. f. Protistenk. Bd. 11.

Labbé, Alph. (1897): Recherches zoologiques, cytologiques et biologiques sur les Coccidies. Arch. Zool. exp. T. 4.

—: Sporozoa. Das Tierreich. Lief. 5. XX.

Lankester, E. R. (1885): Sporozoa. Encyclop. britanniq. London 9e édit. T. 19.

Lang, Arn. (1901): Protozoa. Lehrbuch d. vergl. Anat. d. wirbellosen Tiere. Jena.

Laveran et Mesnil (1899): Sur la Morphologie des Sarcosporidies. C. R. Soc. Biol.

Léger, Louis (1892): Recherches sur les Grégarines. Tabl. Zool. II.

— (1896): Nouvelles recherches sur les Polycystidées parasites des Arthropodes terrestres. Ann. Fac. Sc. Marseille T. 6.

— (1899): Quelques types nouveaux de Dactylophorides de la région méditerranéenne. Miscell. biologiq. dédiées à Giard. Paris.

— (1900): La reproduction sexuée chez les Ophryocystis. C. R. Acad. Sc. Paris T. 131.

— (1900): Sur un nouveau Sporozoaire des larves de Diptères. C. R. Acad. Sc. Paris T. 131.

— (1901): Les éléments sexuels et la copulation chez les Stylorhynchus. C. R. Acad. Sc. Paris T. 133.

— (1901): Sur la morphologie des éléments sexuels chez les Grégarines Stylorhynchides. C. R. Acad. Sc. Paris T. 132.

LÉGER, LOUIS (1901): Sur une nouvelle Grégarine parasite des Pinnothères des Moules. C. R. Acad. Sc. Paris T. 132.
— (1902): Note sur le développement des éléments sexuels et la fécondation chez le Stylorhynchus longicollis F. St. Arch. Zool. exp. T. 10.
— (1904): La reproduction sexuée chez les Stylorhynchus. Arch. Protistenk. Bd. 8.
— (1906): Etude sur Tæniocystis mira LÉGER, Grégarine métamérique. Arch. Protistenk. Bd. 7.

LÉGER, L. et O. DUBOSCQ (1902): Les Grégarines et l'épithélium intestinal chez les Trachéates. Arch. Parasitol. T. 6.
— — (1902): Les éléments sexuels et la fécondation chez les Pterocephalus. C. R. Acad. Sc. Paris T. 134.
— — (1903a): La reproduction sexuée chez Pterocephalus. Arch. Zool. exp. T. 1.
— — (1903b); Aggregata vagans n. sp. Grégarine gymnosporée parasite des Pagures. Arch. Zool. exp. T. 1.
— — (1904): Nouvelles recherches sur les Grégarines et l'épithélium intestinal des Trachéates. Arch. Protistenk. Bd. 4.
— — (1905): Les Eccrinides, nouveau groupe de Protophytes parasites. C. R. Acad. Sc. Paris 28 août.
— — (1906a): Sur l'évolution des Grégarines gymnosporées des crustacés. C. R. Acad. Sc. Paris T. 142.
— — (1906b): L'évolution d'une Aggregata de la Seiche chez le Portunus depurator LEACH. C. R. Soc. Biol. Paris 16 juin.
— — (1907): L'évolution des Frenzelina n. g. Grégarines intestinales des Crustacés décapodes. C. R. Acad. Sc. (novembre).
— — (1908): L'évolution schizogonique de Aggregata (Eucoccidium) Eberthi. Arch. Protistenk. Bd. 12.

LÉGER et HESSE (1907a): Sur une nouvelle Myxosporidie parasite de la Sardine. C. R. Soc. Biol.
— — (1907b): Ibid. Avec une note additionelle sur la structure des spores de Glugea bombycis. Ann. de l'Univ. de Grenoble T. 19 No. 3.

MERCIER (1908): Sur le développement et la structure des spores de Thelohania Giardi HENNEGUY. C. R. Acad. Sc. Paris.

MESNIL, FELIX (1899): Essai sur la classification et l'origine des Sporozoaires. Cinquantenaire Soc. Biol. Paris.

MINCHIN (1903): The Sporozoa. in: A Treatise on Zoology edit. by RAY LANKESTER.

MINGAZZINI, P. (1893): Contributo alla conoscenza degli Sporozoi. Ricerche Labor. Anat. Normal Roma Vol. 3.
— (1889): Contributo alla conoscenza delle Gregarine. Atti Acad. Lincei Roma. Vol. 5.

MOROFF, TH. (1906): Sur l'évolution des prétendues Coccidies des Céphalopodes. C. R. Acad. Sc. Paris T. 142.
— (1907a): Die bei den Cephalopoden vorkommenden Aggregataarten als Grundlage einer kritischen Studien über die Physiologie des Zellkerns. Arch. Protistenk.
— (1907b): Untersuchungen über Coccidien. I. Adelea zonula n. sp. Arch. Protistenk. Bd. 8.

MRÁZEK, H. (1900): Studia o sporozoích. II. Délení jaderné a sporulace u Gregarin. Sitz.-Ber. böhm. Wiss. mat.-nat. Cl.

Nusbaum, Józef (1903): Über die geschlechtliche heterogame Fortpflanzung einer im Darmkanal von Henlea leptodera Vejd. schmarotzenden Gregarinen. Schaudinnella henleæ mihi. Zeitschr. wiss. Zool. Bd. 75.

Paehler, Franz (1904): Über die Morphologie, Fortpflanzung und Entwicklung von Gregarina ovata. Arch. Protistenk. Bd. 4. (Réunion biol. Bordeaux 1905.)

Perez, Ch. (1905): Sur une nouvelle Glugéidée parasite du Carcinus mænas. C. R. Soc. Biol. T. 63.

Perrier, L. (1907): Structure de la spore de Sarcocystis tenella Raill. du mouton et de la chèvre. C. R. Soc. Biol.

Pfeiffer (1893): Untersuchungen über den Krebs. Die Zellerkrankungen und die Geschwulstbildungen durch Sporozoa. Jena (G. Fischer).

Porter (1897): Two new Gregarinida. Journ. of Morphology Vol. 14.

Prowazek, S. (1902): Zur Entwicklung der Gregarinen. Arch. Protistenk. Bd. 1.

Roboz (1886): Beiträge zur Kenntnis der Gregarinen. Ertekez a termeszettud. Köreböl. Magyar Vol. 16. Math.-naturw. Ber. Ungarn. Vol. 4.

Rössler, R. (1882): Beiträge zur Anatomie der Phalangiden mit zwei neuen Gregarinen. Zeitschr. wiss. Zool. Bd. 36.

Rudolphi (1819): Entozoorum synopis. Berolini. in-8°.

Schaudinn, F. (1900): Untersuchungen über den Generationswechsel bei Coccidien. Zool. Jahrb., Abt. f. Anat. Bd. 13.

— (1904): Generations- und Wirtswechsel bei Trypanosoma und Spirochäte. Arb. a. d. kais. Gesundheitsamte Bd. 20.

Schellack, C. (1907a): Entwicklung und Fortpflanzung von Echinomera hispida (A. Schn.). Zool. Anz. Bd. 31.

— (1907b): Über die Entwicklung und Fortpflanzung von Echinomera hispida (A. Schn.). Arch. Protistenk. Bd. 9.

Schneider, A. (1873): Sur quelques points de l'histoire du genre Gregarina. Arch. de Zool. exp. (1) II.

— (1875): Contribution à l'histoire des Grégarines des invertebrés de Paris et Roscoff. Arch. de Zool. exp. (1) IV.

— (1885): Grégarines nouvelles ou peu connues. I. Genre Clepsidrina. Tabl. Zool. T. 1.

— (1887): Gregarines nouvelles ou peu connues. II. Pterocephalus. V. Observations sur la spore de la Grégarine du Homard. Tabl. Zool. T. 2.

Schnitzler (1905): Über die Fortpflanzung von Clepsidrina ovata. Arch. Protistenk. Bd. 6.

Siedlecki, Michel (1898): Reproduction sexuée et cycle évolutif de la coccidie de la Seiche (Klossia octopiana Schn.). Ann. Inst. Pasteur T. 12.

— (1900): Über die geschlechtliche Vermehrung der Monocystis ascidiae R. Lank. Anz. Akad. Wiss. Krakau 1899.

— (1901): Contribution à l'étude des changements cellulaires provoqués par les Grégarines. Arch. d'anat. microsc. T. 4.

Solger, B. (1890): Notiz über einen im Darmkanal von Balanus improvisus (Darv.) lebenden Gregarinen. Mitt. a. d. naturwiss. Verein von Neuvorpommern und Rügen 22. Jahrg.

Stein, F. (1848): Über die Natur der Gregarinen. Arch. f. Anat. Physiol. u. wiss. Medicin Berlin.

— (1867): Der Organismus der Infusionstiere. Bd. 2. Leipzig 1867.

Wilson, E. (1906): Studies on Chromosomes. III. The sexual differences on the Chromosomes groups in Hemiptera with some Considerations on the Determination and Heredity of Sex. Journ. of Experiment. Zoology III.
Wolters (1891): Die Conjugation und Sporenbildung bei Gregarinen. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 37.
Woodcock, H. M. (1904): On Cystobia irregularis (Minch.) and allied "Neogamous" Gregarines. (Preliminary Note.) Arch. Zool. exp. T. 2.
— (1906): The Life-Cycle of "Cystobia" irregularis (Minch.) together with Observations on other Neogamous Gregarines. Quart. Journ. micr. Sc. Vol. 50.

Explication des Planches.

Planche I.

Evolution du kyste de *Nina gracilis* Greb.

Cette planche représente des préparations fixées au liquide de Bouin alcoolique et colorées à l'hématoxyline au fer et à l'orange G.

Fig. 1 à 8 × 180. Fig. 9 × 800. Fig. 10 à 12 × 1000.

Fig. 1. Stade I. Grégarines mâle et femelle montrant le noyau primaire, le noyau protoméritique, les fusées du chromidium primaire et la couche corticale de sphérules sidérophiles. Mâle avec plage mucoïde.

Fig. 2 et 3. Stade II. Début de la multiplication nucléaire.

Fig. 4. Stade III. Noyaux périphériques dans les Grégarines mâle et femelle. Balles mucoïdes dans le cytoplasme mâle.

Fig. 5. Stade IV. Emigration des noyaux femelles attirés par des masses de cytoplasme germinatif.

Fig. 6. Stade V. Distribution réticulée des noyaux dans la Grégarine femelle.

Fig. 7. Stade VI ou Stade de la fécondation. Spermatozoïdes encore attachés à la face interne de la Grégarine mâle.

Fig. 8. Stade VII. Oeufs après fécondation ayant pris la forme du sporocyste.

Fig. 9. Noyau primaire avec ébauche du micronucleus au centre d'un espace clair. Trophochromatine en grains nombreux. Nucléole acidophile.

Fig. 10. Noyau primaire désagrégé. Ebauche du micronucleus sous la forme de quelques chromosomes au centre d'une petite plage de karyoplasme.

Fig. 11. Formation du micronucleus.

Fig. 12. Micronucleus avec le premier centrosome.

Planche II.

Détails de l'évolution du kyste de *Nina gracilis* Greb.

Cette planche représente des préparations fixées au liquide de Bouin alcoolique et colorées à l'hématoxyline au fer et à l'orange G.

Fig. 13 et 14 × 800. Fig. 15 à 30 × 1200. Fig. 31 × 2000. Fig. 32 à 39 × 1500.

Fig. 13 et 14. Portion de coupe pour montrer la structure de la surface des kystes au stade II, en particulier la couche corticale de sphérules sidérophiles et l'enveloppe de mucus chargée de grains sidérophiles.

Fig. 15. Noyau au repos (stade II). — Fig. 16. Division des centrosomes. — Fig. 17 à 25. Différentes phases de la mitose. — Fig. 26. Noyau protoméritique (stade I). — Fig. 27. Noyau protoméritique avant la désagrégation (stade II).

Fig. 28—30. Mitoses plus petites (fin du stade II). — Fig. 31. Spermatozoïdes. — Fig. 32. Oeuf avant la fécondation. — Fig. 33 et 34. Oeuf avant la fécondation avec spermatozoïde à la surface. — Fig. 35. Oeuf au moment de la fécondation. — Fig. 36. Oeuf fécondé. — Fig. 37 et 38. Sporocyste à quatre noyaux. — Fig. 39. Sporocyste à huit noyaux allongés (sporozoïtes encore incomplètement formés).

Planche III.

Evolution de *Nina gracilis* Greb.

Cette planche représente des préparations fixées au liquide de Bouin alcoolique et colorées par la méthode de Mallory.

Fig. 40 × 900. Fig. 42 et 43 × 700. Fig. 44 × 2300. Fig. 45 × 1500. Fig. 46 × 260.

Fig. 40. Portion d'une coupe de kyste (stade II). Grégarine mâle avec plage mucoïdes et sphérules caractéristiques du cytoplasme mâle colorées en bleu. Grégarine femelle avec grumeaux bleus caractéristiques du cytoplasme famelle.

Fig. 41. Portion de kyste (fin du stade II). Grégarine mâle avec balles mucoïdes provenant de la régression de la plage.

Fig. 42. Portion de kyste (stade V). Grégarine mâle avec sphérules caractéristique du cytoplasme mâle. Grégarine femelle ne contenant plus les grumeaux bleus et montrant un réseau alvéolaire très régulier.

Fig. 43. Portion de kyste (stade IV) avec Grégarine mâle envahie par un mycélium *muc* (Mucorinée?); *nm*, noyaux du mâle; *nf*, noyaux de la femelle.

Fig. 44. Noyau (stade II), avec centrosome coloré en bleu, centriole coloré en rouge.

Fig. 45. Région médiane d'un kyste (stade II); *p*, protomérite; *np*, noyau protoméritique; *nd*, noyau deutoméritique; *sph*, sphérules protoméritiques; *s*, lamelles mucoïdes; *chr*, chromidium primaire.

Fig. 46. Grands céphalins attachés à l'épithélium: *a* céphalin montrant la vacuolisation du cytoplasme, *b* céphalin sexuellement mûr.

Planche IV.

Reproduction sexuelle chez les *Actinocephalides* s. lat.

Coloration à l'hématoxyline ferrique, fixation au sublimé acétique ou au liquide de Bouin.

Fig. 47 à 76. Eléments sexuels, copulation et sporogonie chez *Hoplorhynchus*. × 2000.

Fig. 47. Groupe d'éléments mâles prêts à se détacher du lobule somatique; stade à longue tigelle.

Fig. 48 et 49. Stades successifs de la transformation du spermatozoïde.

Fig. 50. Spermatozoïde mûr. — Fig. 51. Deux oeufs non encore séparés. — Fig. 52. Oeuf mûr. — Fig. 53. Copula au début à queue mobile. — Fig. 54 et 55. Copula piriforme.

Fig. 56 à 62. Stades successifs de la copula pendant le rapprochement et la fusion des noyaux.

Fig. 63 et 64. Stades à copula sphérique avec un seul noyau de conjugaison. Fusion des karyosomes.

Fig. 65 à 70. Stades successifs de la transformation de la copula sphérique en une copula en croissant.

Fig. 71 et 72. Deux stades de copula triquètre destinés à donner des sporocystes à trois branches.

Fig. 73 à 76. Stades successifs de la division du noyau de la copula jusqu'au stade à quatre noyaux (le sporocyste définitif à huit noyaux n'a pas été représenté).

Fig. 77. Portion d'un frottis effectué avec le contenu d'un kyste vers la fin de la formation des éléments sexuels: *f, f,* lobes femelles; *m, m,* lobes mâles × 1250.

Fig. 78. Portion d'une coupe de kyste d'*Hoplorhynchus* au moment de la multiplication des noyaux. En haut, Grégarine mâle à cytoplasme plus colorable; en bas, Grégarine femelle. *N*, noyaux somatiques; *n*, noyaux sexuels.

Fig. 79 et 80. Boule et boudin de reliquat avec nombreux noyaux. × 2000.

Fig. 81 à 87. Eléments sexuels et sporocystes chez le *Geneiorhynchus Monnieri.*

Fig. 81. Spermatozoïde normal. × 2000.

Fig. 82. Copula au début, au moment de la fusion des noyaux. × 2000.

Fig. 83. Gros spermatozoïde à longue trompe et à noyau hyperchromatique. × 2000.

Fig. 84. Oeuf. × 2000.

Fig. 85, 86, 87. Sporocystes de *Geneiorhynchus* montrant les transformations successives du reliquat pendant la maturation des sporozoïtes. × 1650.

Fig. 88. Boule de reliquat dessinée „in vivo“ pour montrer les nombreux petits cristaux d'excrétion dans les kystes de *Phialoïdes* après la formation des sporocystes.

Fig. 89. Eléments sexuels mâles et femelles fixés et dessinés au moment de la danse dans un kyste d'*Actinocephalus* sp., parasite du *Lithobius Martini.* × 2000.

Fig. 90 à 101. Eléments sexuels et sporogonie chez *Phialoïdes ornata* Léger. × 2000.

Fig. 90. Début du perlage: *n*, noyau sexuel surmonté de la tigelle; *n'*, *n'*, noyaux inutilisés.

Fig. 91. Spermatozoïde en voie de dégénérescence.

Fig. 92. Microspermatozoïde. Fig. 93. Macrospermatozoïde.

Fig. 94. Oeuf. Fig. 95. Copula à deux noyaux.

Fig. 96. Copula sphérique à un seul noyau de conjugaison.

Fig. 97 à 99. Transformation de la copula sphérique en copula biconique.

Fig. 100. Stade de sporocyste à quatre noyaux.

Fig. 101. Sporocyste mûr, dessiné „in vivo“.

Fig. 102 à 116. Eléments sexuels et sporogonie chez *Ancyrophora gracilis* Léger. × 2000.

Fig. 102. Spermatozoïde à noyau condensé. — Fig. 103. Spermatozoïde au moment de son détachement. — Fig. 104. Oeuf, stade ovoïde. — Fig. 105. Oeuf mûr. — Fig. 106. Spermatozoïdes normaux. — Fig. 107. Début de la copulation.

Fig. 108. Copula piriforme, fusion du noyau et du karyosome.

Fig. 110 à 114. Stades successifs de la transformation de la copula sphérique en sporocyste biconique épineux.

Fig. 115. Sporocyste épineux, mûr, dessiné „in vivo“.

Fig. 116. Stade de perlage chez *Ancyrophora*, dessiné „in vivo“.

Fig. 117 à 121. Elements sexuels et copula chez les Actinocéphalides dessinés „in vivo“. × 2000.

Fig. 117 et 118. Spermatozoïdes dessinés vivants chez *Phialoïdes*. (La même figure ainsi que les deux suivantes, peut s'appliquer avec des dimensions un peu moindres, à *Pileocephalus*, *Hoplorhynchus*, *Geneiorhynchus* et *Ancyrophora*).

Fig. 119. Oeuf. Fig. 120. Copula au début.

Fig. 121. Microspermatozoïde (stérile).

Fig. 122. Portion d'une coupe d'un kyste d'*Hoplorhynchus* montrant les copula mononucléées en croissant.

Planche V.

Reproduction sexuelle chez les Clepsidrinides.

(*Gregarina Munieri* A. Schn.)

Fig. 123. Portion de kyste vue par transparence au stade de perlage „in vivo".

Fig. 124. Stade à bâtonnets „in vivo".

Fig. 125. Début de la mise en liberté des gamètes mâles: *cm*, couloir mitoyen.

Fig. 126. Stade à gamètes libres (aspect en mosaïque de Schneider). Les reliquats somatiques mobiles présentent de grandes dépressions.

Fig. 127. Stade à copula périphériques. Fig. 128 à 167 × 2000.

Fig. 128. Partie superficielle d'un conjoint vers la fin de la multiplication nucléaire: *a*—*g*, les stades successifs de la mitose.

Fig. 129 et 130. Gamètes au stade de perlage avec noyau à chromatine en calotte distale.

Fig. 131. Gamètes à la fin du stade de perlage: *n'*, *n'*, noyaux sexuels inutilisés.

Fig. 132. Gamètes au stade de bâtonnet avec noyau à chromatine en $\wedge$.

Fig. 133 à 141. Gamètes et copulation „in vivo".

Fig. 133. Gamète mâle aussitôt après le détachement.

Fig. 134 et 135. Deux aspects de gamètes mâles pendant leur mobilité.

Fig. 136. Gamète femelle. — Fig. 137. Autre aspect d'un gamète mâle. — Fig. 138. Début de la copulation. — Fig. 139 *a*—*d*. Stades successifs de la copulation. — Fig. 140. Copula au début (en bissac). — Fig. 141. Copulation accomplie.

Fig. 142 à 167. Frottis fixés au sublimé alcoolique et colorés à l'hématoxyline au fer × 2000.

Fig. 142 *a* et *b*. Noyaux somatiques; *c*—*h*, éléments sexuels modifiés par une évolution pathologique.

Fig. 143 *a*—*d*. Divers stades de spermatozoïdes après leur mise en liberté.

Fig. 144. Spermatozoïdes stériles à noyau condensé: *a*, stade montrant les traces d'un filament axile; *b*, stade vacuolaire; *c*, *d*, stades de dégénérescence.

Fig. 145 *a*—*f*. Stades successifs de la réduction chromatique chez les éléments mâles.

Fig. 146 *a*—*d*. Stades successifs du gamète mâle prêt à la copulation.

Fig. 147 *a*—*c*. Stades successifs de l'oeuf après sa mise en liberté.

Fig. 148 *a*—*d*. Stades successifs de la réduction chromatique dans l'oeuf.

Fig. 149 *a* et *b*. Stades successifs de l'oeuf au moment de la maturation.

Fig. 150 à 156. Stades successifs de la fusion des gamètes et de leurs noyaux pour former la copula.

Fig. 157. Copula à synkaryon en fuseau à pôles dissemblables.

Fig. 158. Le synkaryon de la copula prend la forme sphérique.

Fig. 159. Copula à synkaryon sphérique.

Fig. 160 à 167. Stades successifs de la division du noyau de la copula pour la formation des huit noyaux des sporozoïtes.

Bau und Entwicklung von *Wagnerella borealis* Mereschk.

Von
Margarete Zuelzer (Berlin).

(Hierzu Tafel VI—X und 20 Textfiguren.)

Inhalt.

I. Literatur über *Wagnerella borealis.*

Unter dem Namen *Wagnerella borealis* hat Mereschkowsky (1878) ein Tier beschrieben, das er zuerst im weißen Meere entdeckt hatte. Er hat es als ein Tier geschildert, das einen runden Kopf trägt; dieser setzt sich in einen Stiel fort, der sich nach unten petschaftförmig verbreitert und auf Fremdkörpern festgewachsen ist. Der Kopf ist aus langen, geraden zugespitzten und kleineren halbmondförmigen Nadeln gebildet; dem Stiel sind zirkulär gleichmäßig dicht nebeneinander, halbmondförmige Nadeln eingelagert, welche quer zur Stielachse angeordnet sind. Von diesen Nadeln gab Mereschkowsky an, sie seien Kalknadeln und in Salzsäure löslich. Er fand *Wagnerella*, die er des nördlichen Auftretens wegen *borealis* nannte, stets zwischen Schwämmen, hielt *Wagnerella* auch für einen Kalkschwamm und stellte diesen zu den Askonen. Über den Weichkörper des Tieres machte er keine Angaben.

P. Mayer (1879, 1881) fand das Tier im Jahre 1879 in Neapel wieder. Es gelang ihm leicht, nach Mereschkowsky's Abbildungen

der charakteristischen Körperform und den Formen der Kopf- und Stielnadeln die Neapler Tiere mit denen aus dem weißen Meere zu identifizieren. MAYER sah zwischen den Nadeln, welche radiär und tangential dem Kopf anliegen, lange spitze Pseudopodien mit lebhafter Körnchenströmung nach allen Seiten hin ausstrahlen. In der Verbreiterung des Stieles, der Basis, mit welcher das Tier auf seiner Unterlage festgeheftet ist, fand er einen runden Zellkern. Er sah den Kern zur Fortpflanzung in den Kopf wandern, um sich hier in 8 Teile zu teilen; der Kernteilung sah er die Zellteilung folgen. Doch fand er die Skeletnadeln der Tiere unlöslich in Salzsäure, vielmehr nur in Flußsäure löslich. Er stellte fest, daß es sich demnach nicht um Kalk-, sondern um Kieselnadeln handeln müsse. Er erkannte die Protozoennatur der *Wagnerella* und stellte sie zu den Heliozoen.

II. Material und Biologisches.

Während meines Aufenthaltes an der Neapler zoologischen Station im Frühjahr 1905 und 1906 fand ich *Wagnerella borealis* wieder. Von Februar bis April nur selten und ganz vereinzelt. Ende April bis Juni waren die Tiere häufiger. Doch ist im ganzen das Tier selten und sein Auftreten unberechenbar. Öfters standen viele dieser Tiere dicht beieinander. Dann konnte wieder eine oder auch mehrere Wochen vergehen, ohne daß mir vom gleichen Fundplatz auch nur ein Tier zu Gesicht kam.

Mein Material stammte von Steinen, welche etwa 10 Minuten von der Küste Neapels im Hafen von St. Lucia und Merellina gesammelt worden waren. Es sind dort Steinwälle aus Sorrentiner Kalksteinen aufgeschüttet; zwischen diesen liegen vereinzelt Steine aus vulkanischem Tuff. Auf diesen Steinen hatte sich eine Fauna von *Bicellaria ciliata*, *Aplysilla sulphurea*, *Sycon raphanus*, *Leucosolenia blanca* und verschiedenen Serpuliden angesiedelt. Auf kleineren Steinen, mit Vorliebe auf solchen von vulkanischem Tuff, etwa 1—3 m tief, stets auf der Unterseite und stark beschattet von größeren Steinen, fand ich, meist gemeinsam mit *Haliphysema ramulosa*, *Wagnerella borealis* MERESCHKOWSKY. Ich hoffe bald imstande zu sein, einiges von Bau und Entwicklung von *Haliphysema ramulosa* berichten zu können. Hier will ich mich darauf beschränken, meine Beobachtungen an *Wagnerella borealis* mitzuteilen.

Als ich im Frühjahr 1906 die begonnenen Studien über die Entwicklung dieses seltenen Heliozoons fortsetzen wollte, wurden diese durch die große Vesuveruption am 4. April 1906 arg gestört. Beim Aschenregen war viel Asche ins Meer gefallen (Lo Bianco 1907), und diese bildete auf meinen Steinen einen dichten Schlammüberzug, welcher alles Lebende unter sich ersticken ließ. Ende Mai fand ich wieder die ersten Wagnerellen, aber erst im Juni begannen diese sich lebhafter zu vermehren. Da ich Anfang Juli Neapel verlassen mußte, so sind die Resultate der durch die Ungunst der Witterung gestörten Entwicklung fragmentarisch geblieben.

III. Untersuchungsmethoden.

Die Wagnerellen wurden auf den Steinen mit Hilfe einer binocularen Lupe aufgesucht und unter Wasser mit ihrer Unterlage lospräpariert. Meist bestand diese aus einem Stückchen Stein; seltener waren die Wagnerellen auf Serpulidenröhren oder Bryozoenstielen festgewachsen. Es ist nötig, darauf zu achten, daß die Steine, auf welchen nach Wagnerellen gesucht werden soll, stets unter Wasser bleiben und möglichst nicht mit der Luft in Berührung kommen. Die Wagnerellen zu züchten ist eine recht schwierige Aufgabe, die zu lösen mir nur mangelhaft gelang. Nach vielen Versuchen wurden die Tiere in runde Schalen von etwa 4 cm Durchmesser mit frischem Seewasser gebracht, welche zugedeckt in größere Aquarien mit durchfließendem Seewasser versenkt wurden. So gelang es, eine ziemlich gleichmäßige und niedrige Temperatur zu erhalten. Auch ist es zweckmäßig, die Tiere dunkel zu halten, weil dies den natürlichen Bedingungen am meisten entspricht; sie sind durchaus Schattentiere.

Lebend wurde *Wagnerella* im hängenden Tropfen oder unter einem mit Wachsfüßen versehenen Deckglase beobachtet. Es ist nötig, frisches Seewasser durchzuleiten, da das Tier gegen Konzentrationsänderungen sich sehr empfindlich zeigte.

Für Lebendfärbung erwies sich stark verdünnte Methylenblaulösung am geeignetsten. Andere Farbstoffe, speziell Neutralrot, versagten, weil sie sich im Seewasser zu wenig lösen.

Zur Konservierung benutzte ich das Schaudinn'sche Sublimatgemisch. Um jedoch eine gute Färbung des Centralkorns zu er-

halten, ist es nötig, zu demselben etwa 20 Proz. Eisessig zuzusetzen. Vorzügliche Bilder gab auch die Konservierung mit Pikrinessigsäure nach BOVERI. Weniger gute Präparate erhielt ich nach Konservierung mit Osmiumgemischen. Es ist aus Gründen, welche unten näher besprochen werden sollen, nötig, die Kieselnadeln der Wagnerellen vor der Herstellung der Präparate aufzulösen. Ich fand, daß es den feineren Plasmastrukturen am wenigsten schadet, wenn man die konservierten Tiere in absolutem Alkohol gut härtet und dann zu den in einer Uhrschale mit absolutem Alkohol sich befindenden Tieren einen Tropfen Flußsäure zusetzt. Die Tiere sind in $^1/_2$ Minute vollständig entkieselt. Hinterher ist es nötig, die Säure gut auszuwaschen. Totopräparate wurden mit Vorliebe mit Hämalaun oder Carmalaun oder einem Gemisch dieser Farben im Verhältnis 1:2 tingiert und mit 2 proz. Alaunwasser ausgewaschen. Außerdem färbte ich Totopräparate mit verdünntem angesäuerten DELAFIELD'schem Hämatoxylin, HEIDENHAIN'schem Eisenhämatoxylin, seltener mit Boraxkarmin oder Alaunkarmin. Es ist zu bemerken, daß Karminfarbstoffe bessere Bilder des Centralkorns, die Hämatoxylinfärbungen bessere Bilder des Kerns lieferten. Für Schnittpräparate benutzte ich HEIDENHAIN'sches Eisenhämatoxylin und als Plasmafarbstoff Eosin oder Rubin, außerdem Häm- und Carmalaun.

IV. Kurze Übersicht über Organisation und Entwicklung von *Wagnerella borealis*.

Ehe ich zur genaueren Schilderung meiner Befunde übergehe, will ich eine kurze Übersicht über den Bau und die Entwicklung von *Wagnerella borealis* vorausschicken.

Mit freiem Auge ist *Wagnerella* eben noch als weißliches Pünktchen wahrzunehmen. Bei der Betrachtung mit Lupenvergrößerung bereits zeigt sich die typische Gliederung des Tieres in drei Teile, Kopf, Stiel, und dessen untere verbreiterte Partie, die Stielbasis (Textfig. 1). Stiel und Basis bestehen aus einem Rohr, welches sich nach unten, der Festheftungsstelle zu, verbreitert. Die Basis ist gewölbt und zeigt längs unregelmäßige Einkerbungen und Einfaltungen. Der Stiel ist direkt oberhalb der Basis am dünnsten. Er verbreitert sich nach oben ganz allmählich und ist im Querschnitt kreisrund. Der Stiel ist starr, unbeweglich. Basis, Stiel und Kopf

sind gleichmäßig vom Protoplasma erfüllt. Am häufigsten sind Tiere, welche im erwachsenen Zustande eine Stieldicke von etwa 12—22 μ haben und welche 1500—1860 μ lang werden. Während des vegetativen Lebens dieser Tiere liegt in der Basis ein bläschenförmiger Kern; im Kopf, also oft, wenn der Stiel des Exemplars sehr lang ist, ca. 1500—1860 μ vom Kerne entfernt, liegt ein wohlausgebildetes plastinreiches, schwachchromatisches Centralkorn, das von einer breiten radiärgestreiften Sphäre umgeben ist (Taf. VI Fig. 1). Vom Kopf werden Pseudopodien nach allen Seiten ausgestreckt, dieselben lassen sich bis an das Centralkorn heran verfolgen.

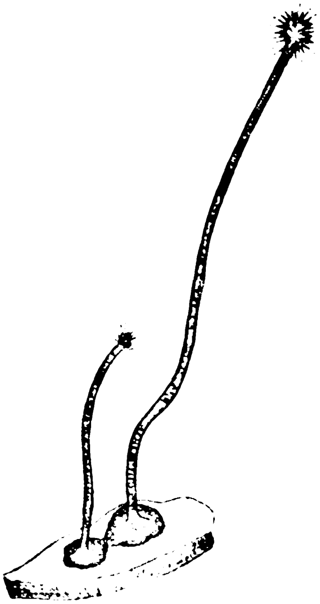


Fig. 1. *Wagnerella borealis.* Nach dem Leben. Obj. A, Oc. 1.

Die weitaus häufigste Form der Vermehrung ist die agamische Fortpflanzung durch Knospung. Schickt das Tier sich zur Knospenbildung an, so schnüren sich durch ungleiche Kernteilung in der Basis vom Kern 1—5 Kernknospen ab, welche central bereits im Mutterkern ein Caryosom (Nucleocentrosoma) enthalten. Diese Kernknospen gelangen mit der Plasmaströmung in den Kopf, umgeben sich hier mit Protoplasmainseln und treten durch das lose Nadelgefüge der Kopfnadeln hindurch nach außen; sie sind nackt und amöboid beweglich. Central enthält der Knospenkern ein Nucleocentrosoma. Die Knospen können sich vermehren, wobei ihr Kern sich mitotisch teilt. Die Knospe beginnt nach einiger Zeit Kieselnadeln auszuscheiden, der Kern rückt exzentrisch, das Nucleocentrosom bleibt central liegen und wird zum Centralkorn des neuen Tieres. Die Knospe wächst direkt zu einer *Wagnerella* aus, welche im Bau dem Muttertiere gleicht. Es kann vorkommen, daß sich der ganze Hauptkern zu Knospen aufteilt. Ebenso häufig geschieht es aber, daß der Kern nach lebhaft ausgeführten Knospungsteilungen in den Kopf wandert und sich dann das ganze Tier noch teilen kann, wie dies weiter unten geschildert werden wird. Während der Knospung bleibt das Centralkorn des Muttertieres unverändert. Wie ich aus gütigst mir von Herrn Professor P. Mayer überlassenen Zeichnungen ersehe, welche

er 1879 nach dem Leben anfertigte (Textfig. 15 p. 170), kann ich annehmen, daß auch er bereits, allerdings fragmentarisch, die Knospung beobachtet hat. Das Centralkorn und die feineren cytologischen Verhältnisse beobachtete er nicht; auch hat er keine Angaben über diesen Fortpflanzungsmodus gemacht.

Bei der zweiten Form der agamischen Fortpflanzung, der Teilung, teilt sich der Kern in 2 gleich große Teilstücke. Der Teilung des Kerns geht stets eine Teilung des Centralkorns voraus. Das Centralkorn teilt sich in 2 Teile. Der Centralkornteilung folgt die Kernteilung. Diese Zweiteilungen können sich so oft, bis 8 bis höchstens 10 Centralkörner und Kerne gebildet sind, wiederholen; auf die Teilung von Kern und Centralkorn folgt jedesmal eine zunächst unvollständige Zellteilung mitsamt der Nadelhülle des Kopfes. Jedes der Teilstücke enthält dann central ein Centralkorn, exzentrisch einen Kern. Jedes Teilstück ist von Nadeln, sowohl halbmondförmigen wie langen geraden Kopfnadeln umgeben, gelangt schließlich nach vollständig ausgeführter Zellteilung auf den Boden und wächst sich direkt zur *Wagnerella* aus, welche dem Muttertiere gleicht. Ich fasse diese Form der agamischen Fortpflanzung als Teilung auf, analog den Vorgängen bei anderen Heliozoen (Schaudinn 1896). Bereits Mayer konnte Teilungsvorgänge bei *Wagnerella* beobachten, beschrieb sie jedoch als Knospung. Er sah bei Tieren, welche sich zur Teilung anschicken, den Kern mit allem Plasma aus der Basis in den Kopf wandern. Der Kopf vergrößert sich dadurch außerordentlich und teilt sich dann mitsamt seiner Kieselnadelhülle mehrfach nacheinander. Mayer gibt an, es seien stets 8 „Knospen“, in welche der Kopf zerfällt, von denen jede einen Kern enthalte. Er sah diese Teilstücke sich loslösen; Taf. VIII Fig. 31 gibt eine Abbildung dieses Vorganges, welche ich der Güte von Herrn Professor Mayer verdanke; er führte sie seinerzeit nach dem Leben aus.

Die 3. Form der Fortpflanzung halte ich für Gamogonie; sie ist selten. Ich konnte sie nur bei 6 bis 8 Proz. aller untersuchten Tiere beobachten. Die agamische Fortpflanzung dagegen, Teilung und besonders Knospung, ist häufig. Beginnt das Tier sich zur Flagellosporenbildung (Gameten?) vorzubereiten, so ist der Kern sehr chromatinhaltig und das Chromatin ist fein im ganzen Kern verteilt. In der nächsten Umgebung des Kerns in der Basis beginnen kleine, im Leben stark lichtbrechende, mit Kernfarbstoff sich sehr intensiv färbende Körnchen aufzutreten. Der Kern degeneriert vollständig, während diese membranlosen, kleinen, karyosomartigen Körnchen sich

lebhaft durch eine charakteristische Mitose mit deutlichen Centriolen vermehren und bald das ganze Tier erfüllen. Das Centralkorn bleibt bei diesem Vorgange unverändert. Schließlich umgibt sich ein jedes Körnchen mit einer Plasmaportion, bildet 2 Geißeln aus und schwärmt aus. Der Restkörper des Muttertieres geht zugrunde.

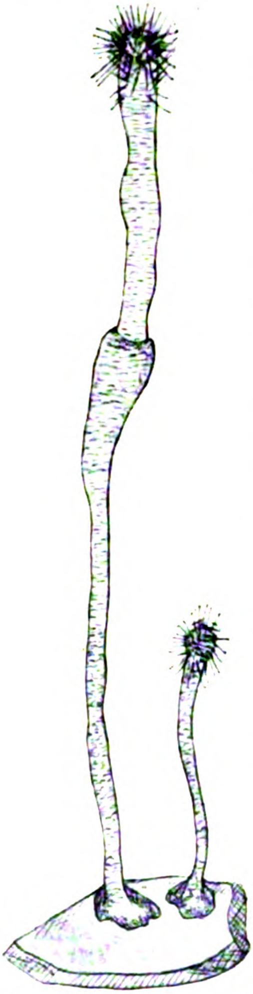


Fig. 2. *Wagnerella borealis*. Nach d. Leben. Obj. A, Oc. 1.

Wagnerella borealis zeigt ebenso wie viele marine Foraminiferen die Erscheinung des Dimorphismus. Sie tritt in 2 Formtypen auf, die in den meisten Charakteren miteinander übereinstimmen, in einigen sehr charakteristischen jedoch regelmäßig voneinander abweichen. Ich vermute, daß ähnlich wie bei den Foraminiferen, z. B. *Trichosphaerium* oder *Polystomella* diese jetzt zu schildernde Generation aus einer besonderen Art der Fortpflanzung ihren Ursprung nimmt. Und zwar glaube ich, daß sie aus den oben kurz beschriebenen Flagellosporen, welche ich für Gameten halte, sich entwickelt, daß es sich also um einen echten Generationswechsel handelt. Doch befindet sich hier eine Lücke in meinen Untersuchungen, ich habe weder Copulation noch das Heranwachsen der Flagellosporen beobachten können. — Bei den beiden Formtypen der *Wagnerella* sind im Bau übereinstimmend 1. die Kernverhältnisse, 2. das Centralkorn, 3. Weichkörper und Pseudopodien, 4. Fortpflanzung durch Teilung, 5. die Skeletnadeln. Der Hauptunterschied der beiden Formen, der auch äußerlich leicht erkennbar ist, besteht in den Größenverhältnissen. Bei der oben geschilderten Generation wird der Stiel 12 bis 22 μ dick und 1500—1860 μ lang; die jetzt zu beschreibende Generation dagegen hat einen 28 bis 100 μ breiten Stiel, welcher bis zu 2500 μ lang werden kann (Textfig. 2), ist also erheblich breiter und größer als die vorerwähnte Generation. Sie ist sehr viel seltener als die andere. Ich fand sie ganz vereinzelt im Mai 1905; häufiger im Juni und Juli 1906.

Auch die Tiere dieser Generation können sich durch Teilung vermehren. Der Kernteilung geht die Teilung des Centralkorns voraus. Die Teilung verläuft ebenso wie bei der zuerst geschilderten, dünneren Generation (Taf. X Fig. 52). Aus den Teilstücken entwickeln sich Tiere, welche dem großen Muttertiere gleich sind.

Während jedoch bei der erstgeschilderten Generation das Tier die weitaus größte Zeit seines Lebens hindurch einkernig ist, dauert bei dieser Generation das einkernige Stadium nur kurze Zeit (Taf. X Fig. 48). Die meisten Tiere dieser größeren, dicken Generation sind während der längsten Zeit ihres vegetativen Lebens vielkernig (Taf. X Fig. 54—56). Der große, in der Basis gelegene chromatinreiche Kern zerfällt simultan, im Plasma liegen dann unregelmäßig verteilt eine große Menge unregelmäßig geformter, klumpiger Chromatinbrocken. Diese lockern sich, ganz ähnlich wie die Kerne von *Calcituba* auf, und bilden sich zu typischen bläschenförmigen Kernen aus. Das Centralkorn bleibt bei diesen Vorgängen unverändert. In dem vielkernigen Stadium bleibt das Tier während der längsten Zeit seines vegetativen Lebens. Die Vielkernigkeit ist die Vorbereitung für eine agamische Fortpflanzung, für eine simultane Schizogonie, die ich als modifizierte Knospung auffaßte. Jeder dieser Kerne umgibt sich mit einer Plasmaportion, und schließlich zerfällt das Plasma in eine ebenso große Menge von nackten und amöboid beweglichen Teilstücken, als vorher Kerne vorhanden waren. Diese beginnen nach kurzer Zeit die charakteristischen Kieselnadeln auszuscheiden. Sie konnten nicht soweit gezüchtet werden, daß ich entscheiden konnte, ob aus diesen Teilstücken dünne oder dicke Tiere sich entwickelten. — Flagellosporenbildung (Gamogonie) tritt bei dieser Generation nicht auf. —

Die Vermehrung der Wagnerellen geschieht also, wenn die Deutung der Flagellosporenbildung als Vorbereitung zur Gamogonie richtig ist, durch Gamogonie und durch Agamogonie, welche in Form eines Generationswechsels miteinander abwechseln. Gametenbildung aus propagatorischem Chromatin unter Zerstörung des somatischen Chromatins tritt nur bei der kleineren, dünneren Generation auf. Beide Formtypen haben agamische Vermehrung durch Teilung, wobei Hauptkern wie Centralkorn sich durch fortgesetzte Zweiteilung vermehren. Agamogamie in Form von Schizogonie einer amphinuclearen Chromatinmasse zu Agameten ist charakteristisch für den Formtypus der *Wagnerella*, welcher bereits äußerlich durch seine erheblich größeren Dimensionen erkennbar ist. Agamogamie in Form von Knospenbildung, wobei die Knospen sowohl ihr kinetisches Zentrum, das Centrakorn,

ebenso wie ihr gesamtes übriges Kernmaterial von dem amphinuclearen (omnipotenten) Hauptkern beziehen, wie dies auch bei der Schizogonie der dicken Generation der Fall ist, ist die häufigste Vermehrungsart der dünnen Generation.

V. Der feinere Bau der *Wagnerella*.

A. Die äussere Hülle.

Der Stiel der *Wagnerella* stellt kein Ausscheidungsprodukt des Körpers des Tieres dar, wie etwa bei *Actinolophus* oder *Clathrulina*, sondern bildet die Körperumhüllung des Heliozoenkörpers selbst. Basalwärts ist der Stiel kegelförmig verbreitert, und das Tier ist mittels dieser Verbreiterung auf seiner Unterlage festgeheftet. Apical trägt der Stiel einen rundlichen Kopf. Der Stiel setzt sich ein kurzes Stück in den Kopf hinein fort. Die Skelethülle des Kopfes ist von einer Hohlkugel gebildet, welche aus lose miteinander verhakten Kieselnadeln besteht (Textfig. 3). Der Oberfläche dieser

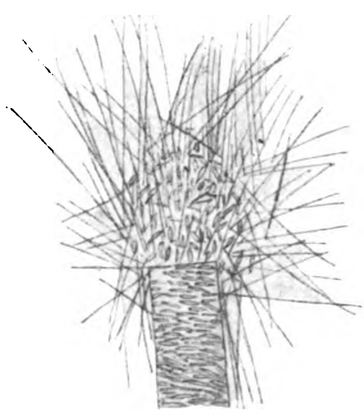


Fig. 3. Kopf nach dem Leben.

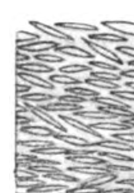


Fig. 5. Nadelverteilung auf der Oberfläche des Stieles. Imm. 2 mm, Oc. 8.

Kugel liegen tangential unregelmäßig angeordnet kurze, etwa 8—12 μ lange, halbmondförmige Nadeln an (Textfig. 4 a); ebensolche Nadeln liegen quer zur Stielachse angeordnet zirkulär am Stiel (Textfig. 5); diese sind sehr ähnlich den Nadeln von *Rhaphidiophrys*; außerdem liegen dem Kopf tangential und radiär gerade, oder nur ganz schwach gebogene, an beiden Seiten zugespitzte 12—50 μ lange Kieselnadeln

unregelmäßig an (Textfig. 4 b). An der Basis der Pseudopodien erheben sich büschelartig etwa 5—8 solcher langen Nadeln, und auch dort, wo der Stiel in den Kopf eintritt, liegen gewöhnlich einige Bündel von ca. 5 solcher langen graden Nadeln, welche basalwärts

Fig. 4a.

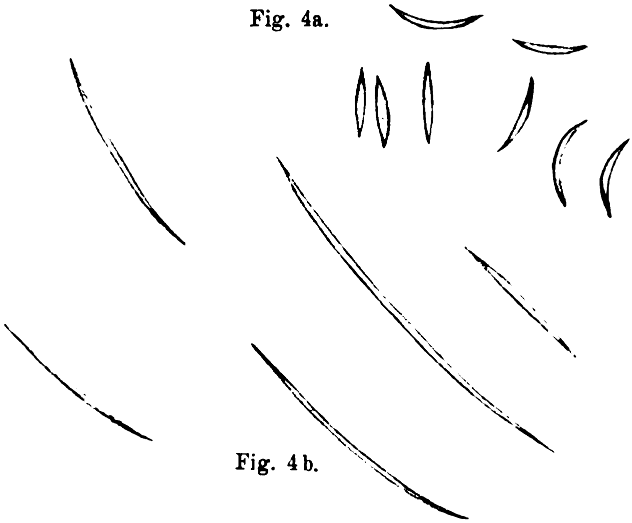


Fig. 4b.

Fig. 4a u. b. Nadeln a) aus dem Kopf, b) aus dem Kopf und Stiel.

gerichtet sind. Im großen ganzen ähnelt die Anordnung dieser Nadeln am Kopfe von *Wagnerella* (Taf. VII Fig. 30) außerordentlich der der Skelethülle von *Rhaphidiophrys pallida*.

1. Die Nadeln.

a) Chemische Natur.

Die Nadeln, sowohl die langen geraden als auch die kurzen halbmondförmigen, sind im polarisierten Lichte einfachbrechend. Durch Glühen werden sie nicht verändert. In heißem Wasser und Mineralsäuren sind sie unlöslich. Von Kalilauge werden sie angegriffen, aber nicht gelöst. In 1 proz. Flußsäure lösen sie sich sofort; nach diesem Verhalten beurteilt, bestehen sie aus amorpher Kieselsäure. Eine Struktur ist an ihnen nicht wahrzunehmen; ebensowenig Öffnungen an den Enden der Nadeln. — Sie sind solid.

b) Nadelbildung.

Die Nadeln werden im Plasma gebildet. Sowohl die langen, geraden wie die kleinen, halbmondförmigen Nadeln liegen unregel-

mäßig verteilt am Orte ihrer Entstehung, im Plasma des Stieles und Kopfes (Textfig. 6), sehr vereinzelt in dem der Basis des Tieres. Sie werden mit der Plasmaströmung umhertransportiert. Im Leben färben sie sich, solange sie neugebildet noch im Protoplasma liegen, mit Methylenblau blau; ihr Inneres erscheint rötlich, doch ist dies wohl eine optische Erscheinung. Optisch und chemisch verhalten sich diese Nadeln sonst ebenso wie die außen liegenden Skeletnadeln des Tieres. Doch bleiben die außen den Kopf und Stiel umhüllenden Nadeln mit allen Farbstoffen ungefärbt. Die Färbbarkeit der Nadeln, solange sie am Orte ihrer Entstehung, im Plasma liegen, rührt wohl davon her, daß sie an der Stelle, wo sie gebildet werden, noch von organischer Substanz umhüllt resp. durchsetzt sind, welche zerstört wird, sobald die Nadeln nach außen gelangen. Diese Nadeln dienen als Reservematerial, das sowohl beim Wachstum des einzelnen Tieres als auch für die durch Teilung entstehende neue Generation verbraucht wird.

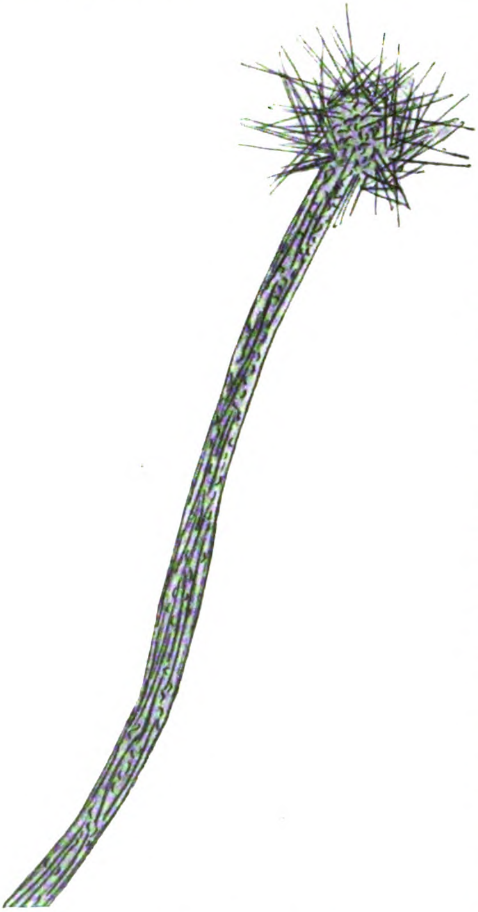


Fig. 6. Nach dem Leben.
Nadelbildung. Optischer Längsschnitt.

c) Physikalisch-chemisches Verhalten der Nadeln.

Beim lebenden Tiere sind sowohl die Nadeln der Hülle als auch die neugebildet im Plasma liegenden blaß und vollständig durchsichtig; sie gestatten die Beobachtung aller Lebensvorgänge am lebenden

Tiere; eine Struktur ist an ihnen nicht erkennbar. Werden die Tiere aber beim Konservieren in 70 proz. oder 90 proz. Alkohol gebracht, so werden alle Nadeln undurchsichtig. Es tritt nämlich im Innern derselben etwas auf, das wie eine Blase aussieht, welche die Nadeln ausfüllt. Optisch verhält sich diese Blase wie eine Gasblase, ist bei durchfallendem Lichte schwarz, bei auffallendem weiß. Die Blase tritt zunächst klein in der Mitte der Nadeln auf und vergrößert sich rasch nach den beiden Spitzen zu (Textfig. 7 a, b, c). Eine



Fig. 7. Nadeln.

Struktur ist an den Nadeln auch jetzt nicht zu entdecken, ebensowenig Öffnungen an den Spitzen. Am schnellsten treten diese optisch sich ebenso wie Gasblasen verhaltenden Blasen im Innern der Nadeln bei Zusatz von Schwefelsäure auf, auch zeigen sie dies Phänomen in stark verdünntem Glycerin, Ölen, Harzen usw. Bei Behandlung mit starken Kochsalz- oder Essigsäurelösungen erscheinen sie nicht. Bei Zusatz von Kalilauge vergrößern sich die Blasen nicht, doch verschwinden sie auch nicht. Erwärmen hat keinen Einfluß. Unter der Luftpumpe verschwinden die Blasen nicht. Bringt man die Nadeln jedoch ins Wasser zurück, so verschwindet die Blase im Innern. Sie wird kleiner, indem sie sich von den Enden nach der Mitte hin zurückzieht, um ganz zu verschwinden (Textfig. 7 d), und dann ist die Nadel wieder ebenso durchsichtig wie im Leben. Setzt man wieder Alkohol, Schwefelsäure, Glycerin usw. zu, so tritt die Blase sofort wieder auf, und die Nadel wird nun wieder undurchsichtig. Im Wasser verschwindet die Blase sofort wieder, und die Nadeln werden wieder durchsichtig. Man kann dieses Experiment beliebig oft mit dem gleichen Erfolg wiederholen. Läßt man die Nadeln lufttrocken werden, so zeigen sie dasselbe Phänomen; ebenfalls, wenn sie aus Luft in Xylol, Alkohole, Glycerin, Öle oder Harze gebracht werden. Dieselbe Erscheinung zeigt sich, wenn man die Nadeln aus Luft in gekochten und abgekühlten Canadabalsam bringt, welcher sogleich nach dem Einbringen der Nadeln vollständig erstarrt. Auch hier werden die Nadeln sogleich central, nicht an der Peripherie undurchsichtig. Es sieht aus, als ob die Nadeln an ihrer Oberfläche eine starke Kieselsäuremembran besitzen.

Dieselben Erscheinungen zeigen, allerdings zum Teil nicht ganz so deutlich, die Nadeln von *Rhaphidiophrys elegans* und *pallida*; ebenfalls sah ich sie bei den Nadeln von *Acanthocystis turfacea*.

Wie Penard (1904) beschreibt, muß es dasselbe Phänomen sein, das die im Leben sehr blassen, durchsichtigen Nadeln von *Acanthocystis spinifera* und *Acanthocystis pantopoda* beim Austrocknen oder bei Zusatz von Schwefelsäure aufweisen. Das merkwürdigste Verhalten zeigen jedoch die Nadeln von *Rhaphidiophrys viridis*. Ich selbst hatte keine Gelegenheit, *Rhaphidiophrys viridis* lebend zu beobachten. Ich verdanke ein Canadabalsampräparat dieses seltenen Organismus der Güte von Herrn Dr. E. Penard. Die Nadeln von *Rhaphidiophrys viridis*, welche im Leben ebenfalls blaß und durchsichtig sein sollen, werden bei Zusatz von Schwefelsäure oder auf Canadabalsampräparaten ebenfalls undurchsichtig (Penard 1904 p. 167). Diese Undurchsichtigkeit der Nadeln von *Rhaphidiophrys viridis* tritt nun nicht in der gleichen Weise zutage wie das Undurchsichtigwerden der Nadeln von *Wagnerella borealis* oder *Acanthocystis*. Es tritt bei diesen Nadeln nämlich nicht e i n e Gasblase im Innern auf, sondern die Nadeln zeigen beim Zusatz der oben angeführten Chemikalien eine äußert feine Querstreifung. Diese Querstreifung entsteht, indem bei den Nadeln immer eine Schicht hell und durchsichtig bleibt wie bei im Wasser befindlichen Nadeln; abwechselnd mit dieser Schicht wird die nächste, ebenso breite Schicht der Nadel von einer äußerst feinen, ebensolchen Gasblase erfüllt, wie eine einheitliche solche im Innern der Nadeln von *Wagnerella*, *Acanthocystis* oder *Rhaphidiophrys pallida* oder *elegans* beim Zusatz der vorhererwähnten Chemikalien auftritt. Da die beiden Schichten immer abwechselnd auftreten, kommt eine feine Querstreifung zustande; dieselbe verschwindet, sobald die Nadeln in Wasser gebracht werden, um beim Zusatz von den oben angeführten Chemikalien sofort wieder aufzutreten. Diese Querstreifung ist ebensowenig wie irgendeine andere Struktur bei im Wasser befindlichen Nadeln erkennbar. Sie beweist, daß die Nadeln keinesfalls hohl sein können. Ihr Zustandekommen mag ihren Grund in der Bildungsweise der Nadeln von *Rhaphidiophrys viridis* haben, die ich zu beobachten keine Gelegenheit hatte.

Ganz ähnliche Erscheinungen zeigt käufliche, nicht ganz fein pulverisierte, amorphe Kieselsäure (Herera 1906, Lottermoser 1901). Auch bei dieser treten blasenartige Gebilde bei Zusatz von Schwefelsäure oder Alkohol auf, um im Wasser wieder zu verschwinden.

Aus der Tatsache, daß im Plasma der *Wagnerella* die Bildung der aus amorpher Kieselsäure bestehenden Nadeln stattfindet, ist

wohl der Schluß zu ziehen, daß im Plasma colloidale Kieselsäure im Solzustand vorhanden sein muß. Dieselbe gelangt beim Prozeß der Nadelbildung zur Ausfällung; demnach repräsentieren die *Wagnerella*-Nadeln den Gelzustand der Kieselsäure.

Bütschli (1900) hat die Mikrostrukturen künstlicher und natürlicher Kieselsäuregallerten näher untersucht. Einige Tatsachen, welche er dabei entdeckte, stimmen sehr wohl mit den geschilderten Erscheinungen überein, deren regelmäßiges Auftreten ich an den Nadeln der *Wagnerella* ebenso wie an denen von *Rhaphidiophrys* und *Acanthocystis* beobachtete.

Beim Kieselsäurevorkommen mineralischer Natur zeigen sich feinste Mikrostrukturen in Form feinwabiger Hohlräumchen, z. B. beim Hydrophan, Halbopal und Edelopal.

Bütschli hat eine solche Struktur ferner für eine große Anzahl colloidaler Körper, wie z. B. Gelatine, geronnenes Eiweiß, Leimwürfel usw. ebenso wie bei künstlichem und natürlichem Kieselsäuregel nachgewiesen.

Die pectisierte Kieselsäure ist von einer Anzahl dichtest gedrängter, feinster Hohlräumchen durchsetzt. Ist die Kieselsäure in diesem Zustand mit Wasser imbibiert, so sind alle die feinsten Hohlräumchen mit Wasser erfüllt; wird das Kieselsäuregel nun in eine andere Flüssigkeit übertragen, wie z. B. in Alkohol, Xylol, Canadabalsam, Glycerin, Schwefelsäure, so wird das Hydrogel der Kieselsäure bei Ersatz des Wassers durch eine andere Flüssigkeit, beispielsweise in das Alkoholgel, Glycerogel, Sulfogel usw. verwandelt. Es sind dies reversible Vorgänge. Sowohl beim Eintrocknen vom Gelatinewürfel aus Xylol als auch bei mit Chloroform getränkter, im Gelzustand befindlicher Kieselsäure, beim Tabaschir, hat Bütschli (1900) Erscheinungen beschrieben und abgebildet, welche sehr an die oben beschriebenen Vorgänge der *Wagnerella*-Nadeln erinnern. Auch beim Austrocknen solcher Stücke treten nämlich Gasblasen auf; dieselben beginnen ebenfalls nicht äußerlich, sondern im Innern der Stücke central aufzutreten. Bütschli vermutet, daß die im Zentrum zuerst auftretenden Gasblasen nicht Luft, sondern beim aus Chloroform in Luft übergeführten Tabaschir zunächst aus Chloroformdampf bestehen. Dies leitet Bütschli (1900 p. 321/22) aus den im Innern solcher feinwabiger Körper herrschenden komplizierten Druckverhältnissen und Oberflächenspannungsunterschieden her. Ich glaube, daß auch beim Kieselsäuregel der geschilderten Heliozoennadeln ebenfalls eine sehr feinwabige Mikrostruktur vorhanden ist, diese aber bei den Nadeln unter der Grenze des optisch Wahrnehmbaren

bleibt. Im Innern dieser Kieselnadeln müßte man analog diesen Vorgängen, je nach dem Medium, in welchem die blasenhaltigen Nadeln sich befinden, Chloroformdampf, Alkoholdampf, Xyloldampf, Schwefelsäuredampf usw. annehmen, welche Gasblasen bilden. Werden die Nadeln wieder in Wasser zurückgebracht, so tritt Wasser an die Stelle der Gasblasen, — es handelt sich ja, wie schon oben gezeigt wurde, um reversible Vorgänge. Diese Erklärung scheint mir nach den von Bütschli beobachteten Vorgängen annehmbar.

Doch ist noch eine andere Betrachtung in Erwägung zu ziehen. Bringt man die Kieselnadeln aus Wasser in Alkohol, Glycerin, Harze usw., so gelangen die Nadeln dadurch in Medien von einem erheblich höheren Brechnungsindex, als das Wasser und auch die Kieselsäure aufweist, und diese stark lichtbrechenden Medien durchdringen bald die Hohlräumchen im Innern des Kieselsäuregels. Die Wabenwände bestehen aus der schwächer lichtbrechenden Kieselsäure. Trotzdem glaube ich nicht, daß es sich beim Undurchsichtigwerden der Nadeln etwa nur um Totalreflexionen, also um eine rein optische Erscheinung handelt.

Aus diesem regelmäßigen Auftreten von undurchsichtigen Blasen in den Nadeln der *Wagnerella* beim Zusatz von Konservierungsflüssigkeiten ergibt sich praktisch die unbequeme Notwendigkeit, die Wagnerellen vor dem Präparieren jedesmal zu entkieseln. Es gelingt dies, ohne die Plasmastrukturen irgendwie so zu verändern, wenn man die Tiere vor dem Entkieseln gut in absolutem Alkohol härtet.

Erwähnen möchte ich noch, daß das Undurchsichtigwerden von Radiolarienskeleten (Häcker 1905) andere Ursachen hat. Jene Radiolariennadeln sind hohl und haben Öffnungen an den Enden.

2. Die Grundsubstanz der Skelethülle.

a) Von Stiel und Basis.

Basis und Stiel werden von einer dünnen aber starren, festen, gelblichen Substanz gebildet. Sie ist etwa 1 μ dick. Diese Substanz, an welcher sich eine Schichtung oder sonstige Struktur nicht wahrnehmen läßt, färbt sich mit Jod und Jodjodkalium dunkelgelb. Gegen Mineralsäuren ist sie widerstandsfähig. 15proz., 50proz. und auch 86proz. Schwefelsäurebehandlung greift sie an, bringt sie zum Quellen, löst sie jedoch auch beim Erwärmen nicht. Auch in Kochsalzlösung bleibt sie unverändert und ist in heißem Wasser unlöslich.

Bei Behandlung mit Salpetersäure mit folgendem Zusatz von 5 proz. Kalilauge oder Ammoniak tritt eine leichte Gelbfärbung ein. In kalter Kalilauge löst sie sich in ca. 10 Minuten, in erwärmter 5 proz. und 1 proz. Kalilauge schon in $^1/_2$ Minute; in Eau de Labarraque erfolgt vollständige Lösung in ca. 10 Minuten. Diese Membran, welche Basis und Stiel bildet, ist demnach ein Eiweißkörper.

In diese starre, organische Membran sind außen regelmäßig dicht übereinander zirkulär die etwa 8 μ langen und halbmondförmigen Kieselnadeln eingelagert (Textfig. 5 p. 144). Beim Entkieseln hinterlassen die Nadeln Einbuchtungen in der organischen Membran, gleichsam ihr Negativ. Auf den dieser Arbeit beigefügten Tafeln ist bei den nach entkieselten Präparaten angefertigten Zeichnungen die organische Grundsubstanz des Stieles durch eine einfache, schwarze Linie angegeben.

Das Tier wächst durch Verlängerung seines Stieles. Das Plasma scheidet successive die organische Substanz aus und fügt sie apical dem Stiele der Grundsubstanz an. Die Länge des Stieles schwankt; junge Tiere haben kurze Stiele; die Wachstumserscheinungen sind p. 159 beschrieben.

b) Zwischen den Kopfnadeln.

Der Stiel setzt sich etwa eine 20 μ lange Strecke in den Kopf hinein fort (Textfig. 5, 11, 13). Das lose Nadelgefüge des Kopfes wird von einer äußerst zarten, farblosen, elastischen Substanz zusammengehalten. Diese Masse ist gallertig und nicht, wie bei *Rhaphidiophrys*, protoplasmatisch. Man kann sie am lebenden Tiere durch fein zerriebene Tusche nachweisen. Die Gallerte ist durchsichtig; sie löst sich schnell in 1 proz. Schwefelsäure, 1 proz. Kalilauge und 10 proz. Kochsalzlösung.

B. Der Weichkörper.

1. Bau und Bewegung des Protoplasmas.

Basis, Stiel und Kopf von *Wagnerella* sind gleichmäßig von Protoplasma erfüllt. Das Protoplasma ist dünnflüssig und schwach lichtbrechend. Im Leben zeigt es einen alveolären Bau. Da die Wabenwände jedoch nur wenig stärker lichtbrechend sind als der Wabeninhalt, so ist es nötig, mit starker künstlicher Beleuchtung zu arbeiten und gut abzublenden. Es treten dann die an sich recht blassen Strukturen deutlicher hervor. Auf Präparaten werden die

Strukturen noch deutlicher. Im Plasma, meist an den Wabenkanten, sind feinste Körnchen eingelagert, welche sich im Leben mit Methylenblau färben. An der Oberfläche bilden die Waben einen deutlichen Alveolarsaum und auch um alle Inhaltsgebilde sind sie radiär angeordnet. Die Größe der Alveolen schwankt von solchen, welche ca. 2 μ im Durchmesser haben, bis zu Vacuolen, deren Inhalt die gleiche Lichtbrechung wie der Alveoleninhalt hat, und deren Durchmesser bis zu ca. 20 μ beträgt. Man kann alle Übergänge beim Zusammenfließen von kleinen in die größeren Alveolen, besonders im Plasma des Stieles und des Kopfes, im Leben beobachten. Die Basis ist ganz, der Stiel nicht vollständig vom Plasma erfüllt. Pulsierende Vacuolen sind nicht vorhanden (Zuelzer 1907). Im Plasma des Stieles liegen zahlreiche hellflüssige Blasen mit scharfen, glatten Konturen. Es sind dies dünnflüssigere Tropfen im zäherflüssigen Plasma. Ihre Gestalt und ihre Größe ist veränderlich. Besonders häufig liegt eine solche direkt unter dem Kopf im Stiel. Schaudinn fand ähnliche, sehr langsam veränderliche Flüssigkeitsblasen bei *Trichosphaerium*. Er meinte, daß durch diese zahlreichen, langsam veränderlichen Flüssigkeitsblasen ein Wasserwechsel im Plasma ebenso erreicht wird wie bei den Süßwasser-Rhizopoden durch die pulsierende Vacuole. Da diese Flüssigkeitstropfen sehr zahlreich sind, genüge hier ein sehr langsames Pulsieren. Im Stiele, welcher zahlreiche solcher Flüssigkeitströpfchen enthält, findet eine sehr lebhafte Plasmaströmung statt, während in der Basis das Plasma während des vegetativen Lebens des Tieres sich in ziemlicher Ruhe befindet.



Fig. 8.
Plasmaverteilung im Stiel. Nach dem Leben. Imm. 2 mm, Oc. 1.

Die Plasmaverteilung in Stiel und Kopf wird durch diese lebhafte Plasmaströmung fortwährend verändert. Die Plasmaströmung zeigt alle möglichen Variationen sehr ähnlich wie bei *Calcituba*. Oft findet eine Rotation, häufig eine Zirkulationsströmung statt. Dann wieder tritt an einer Stelle eine springbrunnartige Strömung auf, wie bei vielen Amöben. Faßt man einzelne Inhaltskörper des Plasmas ins Auge, so sieht man dieselben aneinander

vorübergleiten, plötzlich die Richtung wechseln und umkehren, sieht Strömungen, die sich kreuzen. Selbst auf den ganz dünnen Plasmafäden, welche im Stiel an stark vacuolisierten Stellen die breiteren Randströme miteinander verbinden, ist dies der Fall. Auf solchen dünnen Fäden strömt das Plasma meist schneller als am Rande.

Die Plasmaverteilung im Stiel (Textfig. 8) und häufig auch im Kopf ähnelt sehr der Plasmaanordnung des Primordialschlauches von Pflanzenzellen.

2. Inhaltsgebilde des Protoplasmas.

a) Kristalle.

Im Plasma des Kopfes und Stieles, selten und nur vereinzelt in dem der Basis liegen unregelmäßig verstreut kleine, ca. 12 μ lang werdende Kristalle, welche von der Plasmaströmung umher transportiert werden. Sie sind zylindrisch und haben in der Mitte eine knopfartige Verdickung, die nach außen vorspringt (Textfig. 9). Oft sind sie an dieser Stelle geknickt. Gestalt und Größe wechselt. Häufig liegen 2 Kristalle dicht nebeneinander direkt im Plasma, nie in Vacuolen. Sie sind sehr stark lichtbrechend; zwischen gekreuzten Nikols betrachtet, erweisen sie sich als doppelt brechend. Bei auffallendem Lichte erscheinen sie opak und glänzend, bei durchfallendem matt blau-grünlich. Ihr Auftreten ist an kein bestimmtes Entwicklungsstadium der *Wagnerella* gebunden.

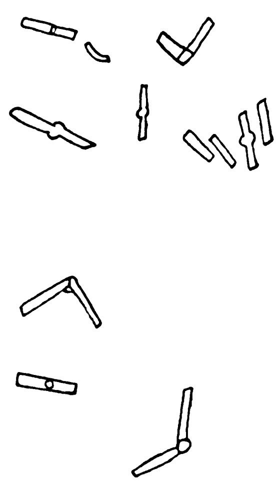


Fig. 9. Kristalle. Imm. 2 mm, Obj. 1.

In heißem Wasser lösen sich die Kristalle in 15—30 Minuten; erheblich schneller in verdünnter Essigsäure, verdünnten Mineralsäuren, Ammoniak und in 1 proz. Kalilauge.

Zur Prüfung auf Kalk wurden die Kristalle unter dem Deckglase mit einer Lösung von Ammoniumoxalat in destilliertem Wasser behandelt; sie lösten sich in 10 Min. bis 4 Stunden ohne Rest, und an ihrer Stelle entstand kein Niederschlag von Calciumoxalat. Damit ist die Gegenwart von Kalk in diesen Exkretkörnern — denn um solche handelt es sich wohl — so gut wie sicher ausgeschlossen.

Leider konnte ich eine eingehende Prüfung auf die etwaigen organischen Bestandteile in den Kristallen nicht vornehmen und vermag nur anzugeben, daß sich letztere mit Jod nicht bräunen.

b) Fetttröpfchen, Granula.

Im Plasma färben sich viele Körnchen mit Jod und Jodkalium gelb, von denen sich ein Teil bei Zusatz von Schwefelsäure bräunt. Kohlenhydrate konnte ich niemals nachweisen; selten waren runde Fetttröpfchen mittels Osmium nachweisbar.

3. Die Pseudopodien.

Das Protoplasma des Stieles geht kontinuierlich in das des Kopfes über. Eine scharfe Scheidung in Ento- und Ectosark wie bei vielen anderen Heliozoen ist nicht vorhanden. Vom Kopf strahlen

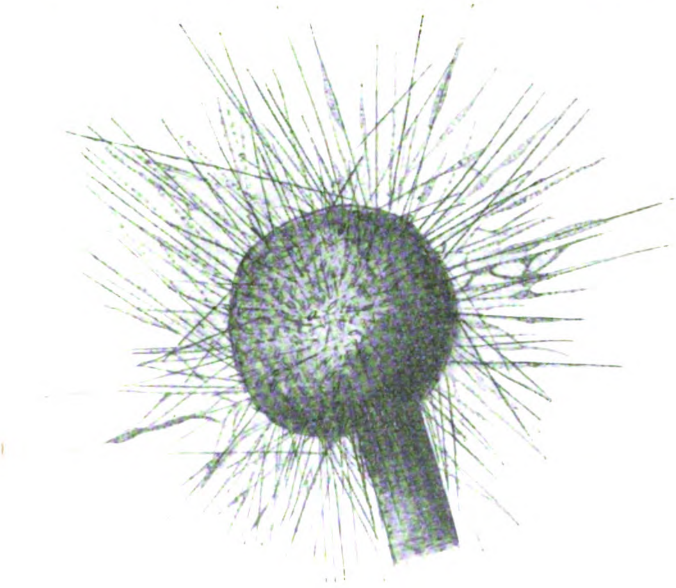


Fig. 10.
Kopf mit Pseudopodien und obere Stielpartie nach dem Leben. Imm. 2 mm. Oc. 1.

nach allen Seiten lange Pseudopodien aus. Die Pseudopodien stehen dicht nebeneinander. An der Basis sind sie etwas verdickt und werden nach der Spitze zu immer dünner. Sie neigen zum Anastomosieren, besonders in ihren basalen Teilen; auch bilden sie häufig Varicositäten (Textfig. 10).

Die Pseudopodien sind hyalin; nie konnte ich in ihnen einen alveolären Bau erkennen. An der Oberfläche zeigen sie lebhafte Körnchenströmung. Die Körnchen färben sich lebend mit Methylenblau; es sind anscheinend wohl zum großen Teil dieselben Körnchen, welche, im Körperplasma der *Wagnerella* fein verteilt, meist in den Wabenkanten liegen. Die Pseudopodien treten durch das lose Gefüge der leicht verschiebbaren Nadeln des Kopfskelets hindurch nach außen.

a) Bewegung der Pseudopodien

α) zur Nahrungsaufnahme.

Der Ausbildungsgrad der Pseudopodien variiert sehr stark. Die Pseudopodien dienen als Fangapparate. Sie ergreifen die Nahrung und können kleinere Diatomeen oder Algen durch das lose Nadelgefüge der Kopfhülle hindurch in das Innere des Kopfes transportieren. Haben die Pseudopodien eine Beute, welche, wie gesagt, meist aus niederen Pflanzen besteht, ergriffen, so findet nach der Stelle hin, wo sich die Nahrung befindet, eine lebhafte Plasmaströmung statt; das Nahrungsgebilde wird vom Plasma umflossen und kann gleich hier an Ort und Stelle extrathalam verdaut werden. Es bildet sich dann an dieser Stelle eine Ansammlung von Plasma, und die Nahrung wird von den Plasmaansammlungen der Pseudopodien amöboid umflossen. Meist entsenden die benachbarten Pseudopodien Anastomosen nach dieser Stelle. Mitunter jedoch ziehen einzelne Plasmafäden mit lebhafter Körnchenströmung die Beute wie mit Tauen ins Innere des Kopfes. Die Nahrungskörper werden dann im Kopf und der oberen Stielpartie in Vacuolen eingeschlossen und verdaut. Die unverdauten Reste werden vom Kopfe aus wieder ausgestoßen.

β) als Tastapparate.

Einzelne Pseudopodien pendeln häufig hin und her, andere können bei Berührung oder beim Nahrungsergreifen plötzlich umknicken. — Außerdem zeigen sie, mitunter aber selten, eine mutierende Bewegung, ähnlich wie die Pseudopodien von *Camptonema* und *Trichosphaerium*. Werden sie gereizt, so kollabieren sie plötzlich, ihre Oberfläche wird rauh und schlapp und das hyaline Plasma des Pseudopodiums fließt schnell in den Kopf zurück.

Die Pseudopodien dienen außer zur Nahrungsaufnahme als Tastapparate; sie sind äußerst empfindlich und reagieren auf alle möglichen Reize zunächst mit Einziehen in das Kopfplasma, das nur

von dem losen Nadelgefüge umgeben ist; dieses fließt dann schleunigst in den starren, festen Stiel zurück, welcher vor den Reizen der Außenwelt einen größeren Schutz bietet.

b) Der feinere Bau der Pseudopodien.

Der Ausbildungsgrad der Pseudopodien schwankt, wie gesagt, ungemein stark.

Die Pseudopodien enthalten, wenn sie wohlausgebildet sind, einen zarten Achsenfaden. Im Leben konnte ich diesen Achsenfaden selten deutlich erkennen, sehr deutlich dagegen auf Präparaten mit Heidenhain'scher Eisenhämatoxylinfärbung. Der Achsenfaden ist nur wenig stärker lichtbrechend als das Plasma der Pseudopodien; er zeigt keine Struktur.

Die Achsenfäden in den Pseudopodien der *Wagnerella* sind äußerst labile Gebilde und gelangen durchaus nicht in allen Pseudopodien zur Ausbildung. Bei der Bildung von Pseudopodien ordnen sich die vorher unregelmäßig verteilten Alveolen des Plasmas des Kopfes zwischen Pseudopodien und Centralkorn in parallelen Maschenzügen an (Taf. VI Fig. 3). Zwischen diesen Längsreihen der Plasmawaben gelangen dann zwischen den Wabenwänden die Achsenfäden zur Ausfällung (Taf. VI Fig. 4) und setzen sich in die Pseudopodien hinein fort. Sie können jederzeit und leicht wieder rückgebildet werden. Die Achsenfäden sind stets (p. 165) auf Chromatinkörnchen in der peripheren Zone des Centralkorns zurückführbar (Taf. VI Fig. 3, 5a, 6a, 6c, 6f, 6m, 6p). Derartige Körnchen sind wohlausgebildet, wenn Pseudopodien mit Achsenfäden vorhanden sind. Sind dieselben nicht ausgebildet, so sind diese Körnchen entweder nach innen verlagert (Taf. VI Fig. 6b, 6k) oder nicht vorhanden (Taf. VI Fig. 5b).

Auch wenn Achsenfäden nicht ausgebildet sind, ist das Plasma zwischen den ausgebildeten Pseudopodien und dem Centralkorn stets in parallelen Maschenzügen angeordnet. Fußplatten der Pseudopodien (Keysselitz 1907) konnte ich niemals beobachten.

Das Plasma der Pseudopodien ist hyalin, strukturlos. Die Pseudopodien treten an der Basis verbreitert nach außen (Taf. VI Fig. 4). Diese schwimmhautartigen Verbreiterungen in der Basis der Pseudopodien zeigen eine alveoläre Struktur. Sie ist sehr dünn, am äußeren Rande besteht sie nur aus einer Maschenlage. Man sieht an solchen Stellen deutlich, wie sich aus dem wabigen, schwächer lichtbrechenden Protoplasma das hyaline, etwas stärker lichtbrechende Plasma des

Pseudopodiums fortsetzt. An der Oberfläche der hyalinen Pseudopodien findet eine lebhafte Körnchenströmung statt.

Bei lebhafter Körnchenströmung der weitausgestreckten Pseudopodien tritt häufig im Kopf und Stiel der *Wagnerella* nur eine sehr geringe Plasmaströmung auf, oder dieselbe sistiert ganz. Es wurde dann häufig die periphere Partie des Plasmas des Kopfes, besonders aber die des Stieles hyalin. Eine Struktur konnte ich in diesen Randpartien dann nicht wahrnehmen (Taf. VI Fig. 2 a). Erst allmählich wird hier nach innen zu das Plasma alveolär (Taf. VI Fig. 2 a). — Die Tiere sind, wie gesagt, äußerst reizbar. Wenn nämlich durch Anstoß, Druck, Änderung der Wasserkonzentration oder sonst irgend ein Eintreten von ungünstigen Lebensbedingungen die Pseudopodien gereizt werden, so fließen diese in den Kopf zurück. Alsbald beginnt das ganze Plasma des Kopfes lebhafte Strömungserscheinungen zu zeigen, welche sich sehr schnell nach dem Stiele zu fortsetzen. Im Augenblick, wo dies geschieht, wird mit einem Schlage das Plasma im Stiel wieder gleichmäßig alveolär und der hyaline Grenzsaum verschwindet (Taf. VI Fig. 2 b). Ob in dem hyalinen Grenzsaum die Waben vorhanden und unter der Grenze optisch wahrnehmbar geblieben sind und sie sich bei dem Eintritte der Strömung wieder vergrößerten, oder ob Neuausfällungen von im Plasma gelösten Substanzen vor sich gingen, vermag ich nicht zu entscheiden.

Tatsache ist, daß bei ungünstigen äußeren Bedingungen, wie beispielsweise stets bei Beobachtung unter dem Deckglase, nach spätestens 10 Minuten die Körnchenströmung völlig sistiert und die *Wagnerella* die Pseudopodien schnell einzieht. Das hyaline Pseudopodienplasma wandelt sich beim Zurückfließen in den Kopf in alveoläres um. Es setzt nun eine sehr lebhafte Plasmaströmung ein, welche basalwärts gerichtet ist. Bei der Plasmaströmung sieht man stets das Verschieben der hellen Tropfen des Wabeninhaltes des Plasmas gegeneinander. Das Kopfplasma beginnt in den Stiel zu fließen, und wenn auch Rotations- und Zirkulationsströme noch vorhanden sind, ja, häufig auch kopfwärts gerichtete Ströme auftreten und verschieden gerichtete Ströme einander kreuzen, so überwiegen bald die basalwärts gerichteten Ströme. Von der Kopfhülle aus fließen einzelne Plasmastränge und -fäden nach dem Stiel zu (Textfig. 11). Das Centralkorn wird passiv bewegt und in den Stiel transportiert (Textfig. 12). Nach etwa 10 bis 15 Minuten ist der ganze Kopf leer und der Stiel mit Plasma angefüllt (Taf. VI Fig. 1 a—c).

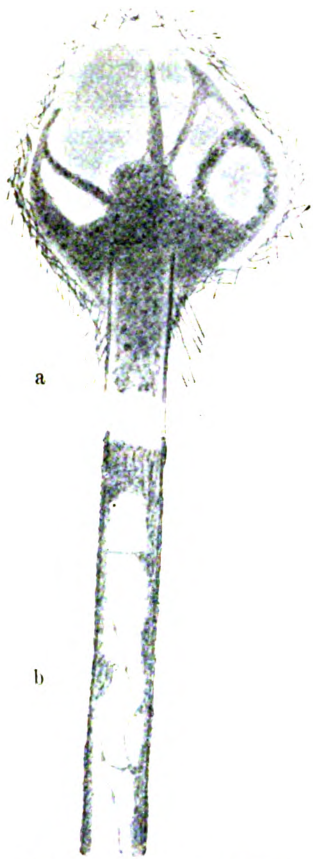


Fig. 11. Plasmaverteilung. Das Plasma zieht sich aus dem Kopf in den Stiel zurück. a) Kopfpartie, b) Stielpartie. P. MAYER. Nach dem Leben gez. Vergr.?



Fig. 12. Das Plasma ist in den Stiel zurückgeflossen, das Centralkorn liegt bereits im Stiel. Nach dem Leben. Vergr.?

Kommt das Tier wieder in günstigere Lebensbedingungen, so fließt das Plasma wieder aus dem Stiel in den Kopf und das Centralkorn wird wieder central in denselben eingelagert. Es wölbt sich dann auch das elastische, in sich zusammengefallene Nadelgefüge wieder zur Kugelform aus (Textfig. 13). Nur wenn der Kopf mit Plasma erfüllt ist,

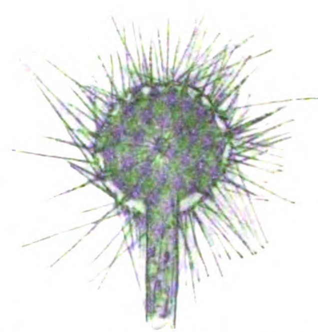


Fig. 13. Optischer Längsschnitt, Kopf vom Plasma ganz erfüllt. central das Centralkorn. Nach dem Leben. Vergr.?

ist er gleichmäßig rund. Beim Ausfließen des Kopfplasmas in den Stiel wird er oft unsymmetrisch länglich (Textfig. 11) und schließlich immer kleiner. Wenn alles Plasma aus dem Kopf in den Stiel geflossen ist, geschieht es nicht selten, daß das leere Nadelgefüge abfällt.

Die *Wagnerella* zieht das Kopfplasma in den Stiel zurück, ähnlich etwa einer gereizten *Tubularia*, welche ihren Kopf in die Stielröhre zurückzieht. Diese Eigenschaft wirkt recht störend, weil man die Tiere unter dem Deckglas selten länger als 10 Minuten hintereinander beobachten kann. Man muß die Tiere dann erst sich in einer Uhrschale mit frischem Seewasser erholen lassen, ehe sie weiter beobachtet werden können.

4. Wachstumserscheinungen.

Die Tiere wachsen, indem sie den Stiel verlängern. Die jungen Tiere haben kurze Stiele, die alten lange Stiele (Textfig. 1 u. 2). Befindet sich das Tier in einer lebhaften Wachstumsperiode, so findet im Protoplasma lebhaft der Prozeß der Nadelbildung statt.

Wächst das Tier, so scheidet es am oberen Ende des Stieles die zunächst weiche Grundsubstanz des Stieles aus; dabei gelangen die im Plasma liegenden, neu gebildeten, kleinen, halbmondförmigen Nadeln nach außen und lagern sich in dieselbe ein; die Substanz erstarrt rasch. Das Wachstum findet an der oberen Stielgrenze, dort, wo der Stiel in den Kopf hineinragt, statt. Das schnellste Wachstum, das ich beobachtete, war vom 16. März bis zum 23. März 1905, und zwar war in der Zeit der Stiel um 500 μ gewachsen. Das Wachstum erfolgt meist successive an der Grenze von Kopf und Stiel. Oft sistiert auch das Wachstum, um dann neu einzusetzen. Diese neueinsetzenden Wachstumsperioden führen zu Wachstumsverdickungen des Stieles. Beginnt das Tier nach einer Wachstumspause von neuem zu wachsen, so greift die neuausgeschiedene Grundsubstanz des Stieles über das alte Stielrohr über, (Textfig. 14) und es entsteht dabei eine Verdickung des Stieles an dieser Stelle. Oder aber, die organische Stielsubstanz wird im alten Stiele eingeschachtelt neuausgeschieden, so daß die alte Stielpartie über die neue übergreift (Textfig. 2 p. 142 linkes Tier oder Taf. X Fig. 52 Stielverdickung). Es wurden beim gleichen Tiere bis zu 3—4 solcher

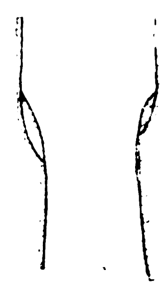


Fig. 14. Längsschnitt durch eine Wachstumsverdickung im Stiel. Verg.?

Wachstumsverdickungen an sehr langen Stielen (1500—1800 μ lang) beobachtet. Doch ist dies eine im ganzen selten zu beobachtende Erscheinung; meist wachsen die Tiere allmählich.

5. Der Kern.

In der Basis, welche vom Plasma vollständig erfüllt ist, liegt der Kern meist der Stielmündung direkt gegenüber (Taf. I Fig. 1b), seltener exzentrisch (Taf. VI Fig. 1a u. 1c). Er hat einen Durchmesser von 20 μ bis 35 μ. Im Leben erscheint der Kern als eine von Flüssigkeit erfüllte Blase, welche zähflüssig und plastisch ist und häufig von der gewöhnlichen runden Form durch Einbuchtungen oder kleine Höcker abweicht. Bereits im Leben sieht man, daß der Kern von einer festen, dünnen, doppelt konturierten Kernmembran umgeben ist. Im Innern bemerkt man stark lichtbrechende Binnenkörper; Anordnung, sowie Größe und Zahl derselben schwankt. Jeder Binnenkörper wird von einem bald schmaleren, bald breiteren, im Leben gut erkennbaren hellen Hof umgeben, welcher auch auf Präparaten deutlich hervortritt (Taf. VIII Fig. 32a). Der helle Hof wird von Kernsaft gebildet. Offenbar spielen sich lebhafte Diffusionserscheinungen zwischen den zähflüssigen Binnenkörpern und dem Kernsaft ab. In der Stoffwechselzone der Binnenkörper mag der Kernsaft dadurch eine andere Konsistenz erhalten als im übrigen Kerninnern und durch so erklärliche Lichtbrechungsdifferenzen der helle Hof zustande kommen. Im lebenden Kern kann man ein Kerngerüst nicht wahrnehmen. Die Binnenkörper liegen, wie gesagt, im Kern unregelmäßig verteilt, sind stark lichtbrechend, deutlich vacuolisiert und zeigen die Neigung miteinander zu verschmelzen. Die Größe der Kerne ist bei gleich großen Tieren Schwankungen unterworfen. Auf Präparaten färbt sich die Kernmembran bei Doppelfärbungen mit der gleichen Farbe wie das Plasma. Ferner erkennt man, daß das Kerninnere von einem feinen netzartigen, achromatischen Gerüst ausgefüllt ist. Dies ist der optische Ausdruck für ein Alveolenwerk; unterhalb der Kernmembran und um die Binnenkörper herum sind nämlich die Maschen dieses Netzwerkes zu einem deutlichen Alveolarsaum angeordnet. Die Maschen des Gerüstes sind schwächer lichtbrechend als die Binnenkörper; am schwächsten lichtbrechend ist der die Maschen erfüllende Kernsaft. Während des vegetativen Lebens der *Wagnerella* findet eine ständige Umlagerung der Substanzen im Kerne statt, und ist eine stete Zu- und Abnahme der chromatischen Bestandteile zu beobachten. Die

Veränderungen im Kerne während des vegetativen Lebens müssen sehr langsam vor sich gehen. Ich konnte beim lebenden Tiere keine Übergänge, nur ein gelegentliches Verschmelzen der Binnenkörper verfolgen. Doch sind es dieselben Stadien, welche stets wiederkehren und sehr häufig sind. Von den stark färbbaren, zähflüssigen Binnenkörpern sind oft nur einige wenige größere vorhanden (Taf. VI Fig. 8a u. 8b). Dieselben sind deutlich vacuolisiert. Diese stark färbbaren chromatischen Binnenkörper zerklüften sich ganz unregelmäßig und zerfallen; dadurch wird ihre Zahl und Größe äußerst variabel. Schließlich ist eine unregelmäßig große Anzahl derselben vorhanden; außerdem sind häufig Chromatinkörnchen über das ganz achromatische Netzwerk des Kerns verteilt. Oft verdecken diese das achromatische Grundgerüst des Kerns fast vollständig. Dasselbe ist dann nur bei feinen Schnitten auf Präparaten, welche mit Heidenhain'schem Hämatoxylin gefärbt sind, erkennbar. In den Knotenpunkten des alveolären, achromatischen Kerngerüstes liegen außerdem feinste Körnchen eingelagert, welche sich ebenso wie das Kerngerüst färben. — Es war mir nicht möglich, in den Binnenkörpern auf diesem Stadium ein Caryosom irgendwie zu erkennen, vielmehr verhielten sich alle Binnenkörper optisch und gegen Farbstoffe gleich. Während dieser vegetativen Kernveränderungen verschmelzen sie häufig miteinander und fließen zu einzelnen großen zusammenhängenden Binnenkörpern zusammen, um sich wieder von neuem über das ganze Kerngerüst zu verteilen.

Die Binnenkörper bestehen aus einer achromatischen Grundlage (Plastin), in welche Chromatinkörnchen eingelagert sind. Die Mengenverhältnisse von Chromatin und Plastin sind äußerst variabel. Dadurch wird die Formenmannigfaltigkeit der Binnenkörper erklärlich. Sind sehr viel Chromatinkörnchen vorhanden, dann färben sich die Binnenkörper sehr stark und die Plastingrundlage wird fast vollständig verdeckt. Chromatinärmere, blasser färbbare Binnenkörper sind für das Studium des Baues geeigneter. Die zähflüssige, plastische Natur des Kerns und die seiner plastinreichen Binnenkörper wird besonders bei Kernen deutlich, welche kurz vor der Teilung auf der Wanderung nach dem Kopf in den Stiel eintreten. Taf. VIII Fig. 32a veranschaulicht einen Kern, dessen vorderes Ende bereits im Stiel sich befindet, lang ausgezogen ist und die Zähflüssigkeit der Binnenkörper deutlich erkennen läßt. Der untere Teil des Kerns befindet sich in der Basis und ist noch kugelförmig abgerundet.

Die im Kerne unregelmäßig verteilten Binnenkörper enthalten zahlreiche Vacuolen, welche zunächst einen verschiedenen Durch-

messer haben (Taf. VI Fig. 8a—8c). Der Vacuoleninhalt ist jedenfalls flüssig. Im weiteren Verlaufe der Entwicklung wachsen die Vacuolen nach und nach heran und gleichen sich in ihrer Größe immer mehr aus (Taf. VI Fig. 8 d). Man vermag dann immer deutlicher zu bemerken, daß die starke Färbbarkeit der Binnenkörper durch viele kleinste Chromatinkörnchen hervorgerufen wird. Bei vorschreitender Vacuolisierung der Binnenkörper wird die stark färbbare Substanz schließlich auf ein Gerüst zwischen den dichtgedrängten Vacuolen reduziert. Diese Gerüstsubstanz ist achromatisch, in sie sind die chromatischen Bestandteile der Binnenkörper eingelagert. In den Knotenpunkten finden dichtere Chromantinansammlungen statt. In solchen Kernen wandert alles Chromatin, welches noch im achromatischen Gerüstwerk des Kernes unregelmäßig verteilt war, allmählich aus dem achromatischen Gerüstwerk des Kernes in diese Binnenkörper. Dieselben lockern sich allmählich immer mehr auf. Dadurch tritt deren selbständige Kernnatur hervor (Taf. VI. Fig. 8e). Auf diesem Stadium findet man die Kerne der *Wagnerella* häufig während ihres vegetativen Lebens. Es dauert lange an. Diese großen Binnenkörper können sich nun allmählich aber nicht synchron teilen, bis schließlich unregelmäßig verteilt im Kern wieder eine große Anzahl kleinerer Binnenkörper liegt (Taf. VI Fig. 8f). Im Zentrum dieser kleinen Binnenkörper erblickt man jetzt, von einer schmalen, hellen Zone umgeben, ein deutliches Nucleocentrosom (Caryosom), mehr peripher liegt das Chromatin. Es ist nur an günstigen Objekten möglich, diese Verhältnisse zu erkennen. Jeder dieser kleinen Binnenkörper oder, wie ich jetzt glaube mit Recht sagen zu dürfen, Sekundärkerne, ist im Leben von einem hellen Hof umgeben, in welchem auf Präparaten die radiärgestellten Alveolen des achromatischen Kerngerüstes erkennbar sind. Man sieht jetzt deutlich, daß der große Kern eine ganze Anzahl solcher bereits fertiger, kleiner Kerne enthält, welche alles aus dem Kerngerüst in die Binnenkörper verlagerte Chromatin enthalten. An vielen solcher Sekundärkerne bleibt die feinere Struktur stets durch fein verteiltes Chromatin verdeckt (Taf. VII Fig. 15 a). Über das erste Auftreten des Nucleocentrosoms (Caryosoms) kann ich leider nichts aussagen, doch ich vermute, daß es bereits bei der Teilung der chromatischen Binnenkörper eine Rolle spielt. Vielleicht ist es da auch noch nicht morphologisch differenziert. Erst aber wie gesagt, wenn die Binnenkörper aufgelockert und ihre feinere Struktur nicht ganz vom Chromatin verdeckt wird, ist es möglich das Caryosom, am besten auf Schnitten mit Heidenhain-scher Färbung oder nach Carmalaun-Hämalaun-Tinkturen als mor-

phologisch differenzierten Körper zu erkennen und dessen weitere Entwicklung zu verfolgen.

Die Umwandlung der Binnenkörper in solche sekundären Kerne ist die Vorbereitung für die Knospung wie auf p. 169 ausführlich gezeigt werden wird. Ich habe diese Kernveränderungen aber hier beschrieben und nicht im speziellen Abschnitt über die Knospung, weil der Kern der *Wagnerella* oft tagelang dieses Stadium zeigen kann, ohne daß es zur Ausbildung von Knospen käme.

6. Das Centralkorn.

Bei Tieren, deren Kopf mit Protoplasma vollgefüllt und infolgedessen gut ausgebildet ist, liegt in der Mitte des Kopfes das im Leben schwach lichtbrechende Centralkorn (Textfig. 13 p. 153), von welchem aus sich eine Plasmastrahlung bemerkbar macht. Werden die Tiere irgendwie gereizt, so fließt das Kopfplasma in den Stiel zurück, und das Centralkorn wird ähnlich wie ein Fremdkörper aus dem Kopf durch die Plasmaströmung in den Stiel transportiert (Taf. VI Fig. 1 a—c, Textfig. 12), um dann beim Vorwölben des Plasmas wieder in die Mitte des Kopfes gelagert zu werden (Textfig. 13). Im Leben erscheint das Centralkorn etwas gelblicher als das umgebende Protoplasma. Totopräparate von *Wagnerella* sind entweder zum Studium des Kerns oder des Centralkorns geeignet. Ist der Kern gut gefärbt und differenziert, so ist das Centralkorn gewöhnlich fast ganz farblos. Zeigt dagegen das Centralkorn eine gute und genügend differenzierte Färbung, so ist stets der Kern desselben Exemplars stark überfärbt. Das Centralkorn ist nach diesem färberischen Verhalten beurteilt, erheblich chromatinärmer als der Hauptkern. Die Art seiner diffusen Färbung läßt auf einen größeren Plastingehalt schließen.

Im Leben sieht man in der Mitte des Centralkorns einen etwas stärker lichtbrechenden Innenkörper. Derselbe wird von einer breiten, radiär gestreiften, gelblich scheinenden Sphäre umgeben (Taf. VI Fig. 5 a u. 5 b). Besonders deutlich tritt diese radiäre Streifung bei Zusatz von Essigsäure zum lebenden Tiere hervor.

Diese Sphäre ist von dem umgebenden Plasma durch eine bereits im Leben sichtbare, körnchenreiche, äußerst feine, membranartige Abgrenzung abgesetzt (Kugelschale, SASSAKI 1893), durch welche es sich deutlich vom umgebenden Plasma und der Plasmastrahlung abhebt. Das Centralkorn ist ein wenig stärker lichtbrechend wie das umgebende Plasma; am stärksten lichtbrechend

ist der centrale Innenkörper; die radiärgestreifte Sphäre ist opak und schwächer lichtbrechend.

Die Sphäre ist achromatisch, plastinreich und mit Kernfarbstoffen nur sehr schwach färbbar; die radiären Streifen sind etwas stärker lichtbrechend und etwas stärker färbbar. Die radiäre Streifung kommt dadurch zustande, daß achromatische Fäden sich von dem chromatischen, centralen Innenkörper des Centralkorns nach der äußeren Membran der Sphäre hinziehen (Taf. VI Fig. 5a u. 6a). Diese Fäden sind isolierte Stränge. Da ich weder im Leben noch auf Präparaten jemals zwischen denselben Querverbindungen auffand, kann ich nicht annehmen, daß sie die Wände von in die Länge gestreckten Plasmawaben darstellen. Auch sind sie dafür zu dick. Sie sind die Leitbahnen, auf denen chromatische Elemente aus der inneren chromatischen Partie des Centralkorns nach der Peripherie wandern.

Umgeben wird das Centralkorn von einem verhältnismäßig breiten, plasmatischen Alveolarsaum (Taf. VI Fig. 5a und 5b, Taf. IX Fig. 50, 51a). Sind die Pseudopodien ausgestreckt, so läßt sich von den Pseudopodien bis an das Centralkorn heran eine deutliche Plasmastrahlung verfolgen. Dieselbe kommt durch eine radiäre Reihenanordnung der Plasmawaben zwischen Centralkorn und Pseudopodien zustande. Die Wabenwände bilden die Querverbindungen zwischen den Strahlen (Taf. VI Fig. 3, 5a, 6a). Bei solchen eine deutliche Strahlung zeigenden Tieren sind die Körnchen auf der Grenze von Centralkorn und Plasma stärker ausgebildet. — Für das Studium des lebenden Centralkorns empfiehlt sich die Färbung der Tiere mit Methylenblau. Es färben sich in diesem Falle im Plasma suspendierte Körnchen im Leben blau und lassen das ungefärbt bleibende Centralkorn deutlicher hervortreten. Die verhältnismäßig großen Körnchen in der Membran des Centralkorns färben sich im Leben jedoch nicht mit Methylenblau. Bei gut ausgebildeten Köpfen ist eine Strahlung auch nach dem Stiel zu vorhanden und läßt sich unter Umständen etwa 40 μ in den Stiel hinein verfolgen (Taf. VI Fig. 3). Die Anordnung der Plasmawaben erfolgt sehr regelmäßig in Längsreihen. Auch die Körnchen in der Membran des Centralkorns sind dann gegenüber vom Stiel besonders gut ausgebildet (Taf. VI Fig. 6d, 6e, 6f). In solchem Falle kommt es nicht selten vor, daß das kuglige Centralkorn nach dem Stiel zu eingedrückt ist, etwa wie eine Delle im Gummiball. Es bildet dann fast ein Dreieck, dessen Breitseite dem Stiele zugekehrt ist (Taf. VI Fig. 6, 6d, Fig. 9 linkes Tier). Bei Tieren mit langem Stiel ist diese Strahlung

besonders deutlich und die Körnchen kräftig ausgebildet. Mitunter kommt es vor, daß die mittlere Partie des Centralkorns dann nach dem Stiel zu ausgezogen ist (Taf. VI Fig. 6g) oder sich hier eine Partie der sonst achromatischen, radiärgestreiften Sphäre etwas stärker färbt, sich chromatinreicher zeigt (Taf. VI Fig. 6d, 6e, 6f, 6l).

Sind Pseudopodien ausgestreckt, so färben sich in der membranartigen Abgrenzung zwischen Centralkorn und Protoplasma die kleinen Chromatinkörnchen sehr deutlich und scharf. Dieselben liegen an der Grenze je eines Stranges der radiärgestreiften Sphäre und je einer Wabenlängswand des Alveolarsaums (Taf. VI Fig. 5a, 6a, 6c—f, 6i, 6m, 6o, 6p). Diese Körnchen spalten sich von der centralen chromatischen Partie des Centralkorns ab und wandern auf den gleichmäßig die Sphäre radiär durchziehenden achromatischen Fäden peripherwärts. Nach HEIDENHAIN'scher Eisenhämatoxylinfärbung kann man erkennen, daß von diesen Körnchen aus nach den Pseudopodien die feinen Achsenfäden, welche die Pseudopodien durchziehen, ausgehen (Taf. VI Fig. 3). Die Chromatinkörner wandern regelmäßig in die äußere Membran des Centralkorns; in ihnen sehe ich die Bildungszentren der Achsenfäden. Die Achsenfäden nehmen, wie gesagt, aus diesen Chromatinkörnchen ihren Ursprung. Taf. VI Fig. 6p zeigt eine Oberflächenansicht des Centralkorns eines Tieres, das gut ausgebildete Pseudopodien mit Achsenfäden aufwies. Von je einem Körnchen geht ein Achsenfaden aus. Sind Achsenfäden nicht ausgebildet, hat das Tier keine Pseudopodien ausgesandt, oder ist das Centralkorn in den Stiel transportiert, dann sind die Körnchen nur schwach ausgebildet; sie liegen nicht außen, sondern innen an der Grenze der centralen Partie und der radiärgestreiften Sphäre (Taf. VI Fig. 6b, 6k), oder sind gar nicht vorhanden (Taf. VI Fig. 6g, 6h). — Sind keine Pseudopodien ausgestreckt, so liegt mitunter das Centralkorn exzentrisch im Kopf. Das Plasma bildet aber jedenfalls stets einen deutlichen Alveolarsaum um das Centralkorn herum. Die Wabenanordnung des Plasmas ist dann unregelmäßig (Taf. VI Fig. 5b Taf. IX Fig. 50 u. 51a).

Der stark lichtbrechende Innenkörper, welcher im Centralkorn central liegt, erscheint im Leben homogen. Es ließen sich darin im Leben keine Differenzierungen wahrnehmen (Taf. VI Fig. 5a). Auf Präparaten läßt sich leicht in diesem Innenkörper ein central gelegenes Körnchen deutlich machen. Dieses Körnchen ist der am stärksten färbbare Teil des Centralkorns. Die chromatische Zone, welche dieses umgibt, entspricht im Umfang dem im Leben gesichteten, homogenen Innenkörper. Am schwächsten, kaum stärker

als das umgebende Protoplasma, färbt sich die radiärgestreifte Sphäre. Im Leben ist zu beobachten, daß das Verhältnis der Größe des Innenkörpers zur Breite der radiärgestreiften Sphäre sich ständig verändert. Speziell das Auftreten der Körnchen in der äußeren Begrenzung schwankt (Taf. VI Fig. 5a, 5b). In seltenen Fällen kann die radiärgestreifte Sphäre ganz fehlen (Taf. VI Fig. 7).

Konfiguration, Färbbarkeit und Verteilung der Substanzen des Centralkorns sind während des vegetativen Lebens des Tieres in steter Veränderung begriffen. Es gehen cyclische Veränderungen vor sich, welche regelmäßig wiederkehren (Taf. VI Fig. 5a—6o). Die auf den Präparaten studierten Bildungen kann man am lebenden Objekt immer wiederfinden. Doch gehen diese Veränderungen zu langsam vor sich, als daß es möglich wäre, den Übergang des einen Zustandes in den anderen am lebenden Tiere zu verfolgen. Im Innern des Centralkorns liegt central umgeben von der radiärgestreiften Zone das eigentliche Centralkorn, das ich als Centrosoma bezeichnen werde; in diesem wieder central, wie oben angeführt wurde, ist ein mit Kernfarbstoffen sich stark und distinkt färbendes Körnchen. das Centriol, deutlich zu machen. Dieses Centriol ist konstant und bildet das Zentrum von offenbar sehr komplizierten Stoffwechselumsätzen. Diese spielen sich regelmäßig wellenförmig vom Centriol beginnend peripherwärts in das Protoplasma hinein ab. Dabei werden chromatische Elemente von hier aus nach außen abgegeben. Der Chromatingehalt des Innenkörpers schwankt je nach dem Verhältnis, in dem es chromatische Substanzen nach außen abgibt. Die Färbbarkeit des Centralkörpers nimmt bei zunehmender Vergrößerung mit Auflockerung seiner chromatischen Bestandteile ab. Er gibt chromatische Elemente an die Sphäre und in das Protoplasma ab. Er vergrößert sich, lockert sich durch Flüssigkeitsaufnahme aus dem umgebenden Plasma auf (Taf. VI Fig. 6k—6o). Dabei wird erkennbar, daß das Centrosom ein achromatisches Grundgerüst besitzt. in welches die chromatischen Elemente eingelagert sind. Der wabige Bau ist jedoch nur vorübergehend erkennbar. Die centrale Partie des Centralkorns ist dann regelmäßig wabig gebaut (Taf. VI Fig. 6m, 6o); die chromatischen Bestandteile befinden sich nur in den Knotenpunkten des Wabenwerkes. Sein Aussehen erinnert dann an das Aussehen des Centrosoms von Echinodermeneiern oder an das Centralkorn von *Sphaerastrum* und *Acanthocystis* (Schaudinn 1898). Vornehmlich nach mehrfacher Teilung des Centralkorns. nach vollendeter Körperteilung der *Wagnerella* (pag. 178) zeigt das Centralkorn solch spongiösen Bau (Taf. VIII Fig. 38). Erst allmählich differenzieren

sich im Zentrum aus diesem Centralkorn feinste chromatische Körnchen wieder zum Centriol (Taf. VI Fig. 6m, 6o). Bald werden Substanzen in das umgebende Plasma abgegeben und dort aufgelöst (Taf. VI Fig. 6a—f, 6o). Es spalten sich die Chromatinkörnchen, die Bildungszentren der Axopodien ab; der übriggebliebene Rest des Centrosoms wächst wieder heran und der Prozeß beginnt von neuem. Dabei kommen Stadien zustande, bei denen vorübergehend zwei ineinandergeschachtelte Centrosomen vorhanden sind (Taf. VI Fig. 6n); ganz ähnliche Bildungen wie sie SIEDLECKI 1905 vom Caryosom von *Caryotropha* Fig. 6a abbildet. Im Innern des neuen Centrosom liegt das Centriol (Taf. VI Fig. 6n). Ganz vorübergehend ist das Stadium, in welchem die radiärgestreifte Sphäre aufgelöst und nicht vorhanden ist; sie wird dann wieder neugebildet (Taf. VI Fig. 7). Dieser Auf- und Abbau des Centralkorns geht regelmäßig und cyclisch während des vegetativen Lebens der *Wagnerella* vor sich. In regelmäßigen Zeiträumen verkleinert sich das Centralkorn und dann nimmt seine Färbbarkeit zu. Zeitweise ist es so kompakt gebaut, daß es nicht gelingt, im Centrosom das Centriol deutlich zu machen. Erst bei zunehmender Auflockerung wird wieder die Struktur und dann stets das Centriol erkennbar (Taf. VI Fig. 6c, d).

Bei den Centrosomen der Metazoen sind derartige cyclische, regelmäßig sich wiederholende Veränderungen bekannt (v. ERLANGER 1898, BOVERI 1900, HARTMANN 1902 usw.). VEJDOWSKY und MRAZEK (1903) haben bei den für diese Studien günstigen *Rynchelmis*-Eiern die cyclischen Veränderungen des Centrosoms genau geschildert und diese Beschreibungen weisen eine überaus große Ähnlichkeit mit diesen cyclischen Veränderungen des *Wagnerella*-Centralkorns auf. Nach VEJDOWSKY und MRAZEK kommen die cyclischen Veränderungen durch ein gesetzmäßiges Ineinandergreifen von zentripetalen und zentrifugalen Strömungen zustande, wodurch periodisch die Centrosomensubstanz auf- und abgebaut wird, und deren Struktur demgemäß regelmäßig erscheinende Veränderungen aufweist. Konstant bleibt auch bei *Rynchelmis* ebenso wie bei *Wagnerella* nur das Centriol. Das Centrosom von *Actinosphaerium* zeigt (R. HERTWIG 1898) ebenfalls solche cyclischen Veränderungen.

Gesetzmäßig verlaufende, regelmäßig wiederkehrende, cyclische Veränderungen sind charakteristisch für Centrosomen. HARTMANN und v. PROWAZEK (1907) weisen ausführlich darauf hin. „Die gesetzmäßig verlaufenden cyclischen Metamorphosen kennen wir sonst von keinem Zellgebilde; sie sind für die hier besprochenen Bildungen charakteristisch (Caryosom, Centrosom und kinetischer

Kern von Protozoen) und somit für eine Homologie derselben ebenfalls von Bedeutung. Die Veränderungen betreffen nur die chromatische und Plastinsubstanz der lokomotorischen Kerne, das Centriol bleibt unberührt.“ Und weiter unten: daß der cyclische Verlauf der stofflichen Veränderungen „zu einer vollen Auflösung der lokomotorischen Kerne im Plasma bis auf das Centralkorn und zu einer nachmaligen Rekonstruktion führen kann“. „Das ist zweifellos der Ausdruck innigster Wechselbeziehungen im Stoffwechsel zwischen lokomotorischem Kern und umgebendem Plasma. Daraus muß man aber folgern, daß die lokomotorischen Kerne nicht nur dynamische Funktion besitzen, sondern auch für das Stoffwechselgetriebe der Zelle von wesentlicher Bedeutung sind.“

Bereits durch derartige am *Wagnerella*-Centralkorn regelmäßig auftretende cyclische Veränderungen tritt die Centrosomenähnlichkeit des Centralkorns hervor. Bei seiner bei den Knospungserscheinungen näher geschilderten Funktion als Centrosom während der Mitose wird die Centrosomennatur noch deutlicher erscheinen.

In der bereits oben angeführten Arbeit von Hartmann und Prowazek (1907) ist ferner die Kernnatur des Centrosoms und die Literatur über diese Frage so ausführlich erörtert, daß ich diese Frage hier nicht näher besprechen will. Die Kernnatur des Centralkorns tritt bereits bei der Betrachtung seines recht komplizierten Baues hervor. Es besitzt alle Bestandteile eines vollkommenen Zellkerns, ein Centrosom mit Centriol-Caryosom, Chromatin und Plastin. Durch seine Funktion als kinetisches Zentrum weist das Centralkorn große Ähnlichkeit mit dem lokomotorischen Kern der Trypanosomen, dem Blepharoplasten, auf. Auch im Bau ist diese Ähnlichkeit vorhanden, da er wie dieser eine feinere Kernstruktur besitzt und ebenfalls ein Centriol enthält. Das Centralkorn ist, wie gezeigt wurde, ebenso wie der Blepharoplast chromatinärmer, und an achromatischen Bestandteilen reicher als der Hauptkern. Die die Achsenfäden bildenden Chromatinkörner dürften den Basalkörnern der Blepharoplasten gleichwertig sein. Vom Centralkorn her kann ebenso wie vom Blepharoplasten der rückgebildete Lokomotionsapparat jederzeit neu gebildet werden. Die Axopodien sind hier also, ebenso wie die anderen elastischen Elemente der Protozoen, auf Kernderivate zurückführbar. Die Art, wie die die Achsenfäden bildenden Chromatinkörner an der Centralkornmembran angeordnet sind, erinnert lebhaft an den Belag mit gleichgroßen Binnenkörpern der Membran von *Actinophrys*-Kernen. Es wird dies besonders bei einem von oben gesehenen Bilde des Centralkorns deutlich (Taf. VI

Fig. 6p), und derartige Bilder lassen die Kernnatur des Centralkorns hervortreten.

In späteren Absätzen — bei der Knospung und der Teilung — wird die Entstehung des Centralkorns beschrieben werden. Dabei werden sich zu diesen physiologischen und morphologischen Homologa mit dem Blepharoplasten, entwicklungsgeschichtliche hinzufügen lassen.

VI. Die Fortpflanzung von *Wagnerella borealis.*

A. Die dünne Generation.

1. Agamogamie.

a) Die Knospung.

Der Beginn der Knospenbildung findet in der Basis statt. Der Hauptkern teilt sich dort in zwei ungleich große Stücke. Das sich vom Hauptkern abschnürende Teilstück besteht aus einem bereits im Mutterkern vorgebildeten Tochterkern (Sekundärkern), welcher ein Caryosom enthält, und dessen Bildung auf pag. 162 näher geschildert wurde. Die Verhältnisse sind nur selten so deutlich, wie bei einem solchen auf Taf. VI Fig. 8f abgebildeten Kern, häufiger ist noch viel Chromatin im achromatischen Netzwerk verteilt. Dadurch wird das Caryosom verdeckt und die Verhältnisse erscheinen erheblich undeutlicher. Bei den meisten Kernknospungen sieht man nicht mehr, wie auf Taf. VII Fig. 15a abgebildet ist. Aber, wie gesagt, an günstigen Objekten ist stets zu beobachten, daß jede dieser Kernknospen von einem sich abschnürenden Sekundärkern gebildet wird, in dessen Mitte central ein Caryosom sich befindet. Besonders auf Schnitten sieht man deutlich in der eben abgeschnürten Kernknospe das centrale Caryosom; das achromatische Gerüstwerk ist fast ganz von feinverteilten Chromatinkörnchen überdeckt. Die Kernknospe besitzt noch keine Kernmembran. Diese Kernknospen — es können sich in kurzen Zwischenräumen bis 5 Knospen von gleichen Kernen abschnüren — gelangen mit der Plasmaströmung in den Kopf (Taf. VII Fig. 10—12). Man sieht in der Mitte von solchen etwas älteren Knospenkernen das herangewachsene Caryosom gelegen; jetzt gelingt es, auf feinen Schnitten in dessen Mitte ein feines, sehr stark färbbares Körnchen, das Centriol, durch Färbungsdifferen-

zierung (Taf. VII Fig. 17) deutlich zu machen. Das Caryosom, oder das seiner späteren Funktion nach vielleicht besser als Nucleocentrosoma bezeichnete Korn wird von einer Zone sehr schwachfärbbaren Plasmas umgeben; sie repräsentiert offenbar die Region seines Stoffwechsels. Die Struktur des Knospenkernes ist gleichmäßig fein alveolär. In den Wabenwänden sind feinste Chromatinkörnchen regelmäßig verteilt. Das Protoplasma der Knospe ist etwas weitmaschiger gebaut als das des Muttertieres; in ihm liegen unregelmäßig verteilt einige wenige Flüssigkeitsvacuolen (Taf. VII Fig. 17). Im Kopf ist die Kernknospe zunächst ziemlich central gelagert. Hier umgibt sie sich mit einer Plasmaportion, welche aus dem Plasma des Kopfes stammt. Bald wandert sie durch das Plasma des Kopfes hindurch an die Oberfläche des Kopfes. (Textfig. 15, Taf. VII Fig. 12 u. 16.) Dort veranlaßt sie zunächst eine kugelartige Ausbuchtung der Skelethülle. Die Knospe ist amöboid beweglich, bald tritt sie durch die leicht verschiebbare Nadelhülle des Kopfes hindurch nach außen. DieKnospen beginnen nach kurzer Zeit im Protoplasma die charakteristischen kleinen, gebogenen, halbmondförmigen, später auch die langen geraden Kieselnadeln auszuscheiden. Der Kern wandert aus einer centralen Lage exzentrisch und das Nucleocentrosom bleibt central liegen. Nach einiger Zeit setzt sich die Knospe fest und streckt sich in die Länge. Das Nucleocentrosom wird zum Centralkorn. Im Kern fließt das Chromatin zu unregelmäßigen Binnenkörpern zusammen. Das ausgebildete Tier wird in Bau- und Größenverhältnissen dem Muttertiere gleich. — Hertwig hat den Prozeß der Brutkapselbildung bei *Acanthocystis* geschildert (1877), welcher äußerlich der *Wagnerella*-Knospung sehr ähnlich verläuft. Die von Schaudinn (1896) beschriebenen cytologischen und biologischen Beobachtungen der Knospung bei *Acanthocystis* ähneln der der *Wagnerella* auch in den Details aufs lebhafteste. Nur sah ich *Wagnerella*-Knospen niemals Geißeln ausbilden. Schaudinn (1896) sah das Centralkorn durch Knospung aus dem fertigen Knospenkerne entstehen. Bei *Wagnerella* ist die erste Anlage des Centralkorns bereits innerhalb des Hauptkernes (Primärkernes) in den Binnenkörpern (Sekundärkernen) des Muttertieres nachweisbar. Durch die caryosomale Art seiner Entstehung wird das Centralkorn, dessen Funktion als kinetisches Zentrum während des vegetativen Lebens des Tieres bereits große



Fig. 15. Knospung. P. Mayer gezeichnet. Nadeln fortgelassen. Vergr.?

Ähnlichkeit mit der des Blepharoplasten der Binucleaten aufweist, auch entwicklungsgeschichtlich dem Blepharoplast homolog.

Die nackten Knospen können sich ihrerseits teilen. Diese Teilung kann sowohl stattfinden, solange die Knospe fertig ausgebildet noch im Kopfe liegt (Taf. VII Fig. 20 u. 26), als auch wurde solche Teilung bei bereits losgeschnürten jungen, noch skeletlosen Knospen beobachtet (Taf. VII Fig. 21 u. 22). Beginnt die Knospe sich zur Teilung anzuschicken, so schnürt sich das Centriol hantelförmig ein (Taf. VII Fig. 18). Das Chromatin des Kerns fließt zu unregelmäßigen Brocken zusammen, welche sich bald zu Strängen in Knäuelform anordnen. Dabei bemerkt man häufig, daß die Chromatinverteilung sich sehr nach einer Seite des Kerns hinzieht, während an der anderen Seite das weitmaschige, achromatische Kerngerüst sichtbar wird (Taf. VII Fig. 18). Erst auf diesem Stadium konnte ich das Vorhandensein einer äußerst feinen Kernmembran konstatieren. Das Centriol schnürt sich hantelförmig durch, und die beiden Hälften des Nucleocentrosomas rücken dann auseinander (Taf. VII Fig. 19). Das Chromatinknäuel beginnt in eine große Menge von Chromosomen zu zerfallen, welche sich in der Äquatorialebene anordnen. Die Chromosomen sind so unregelmäßig gelagert, liegen so dicht beieinander und sind derartig miteinander verklebt, daß es unmöglich ist, sie zu zählen; es mögen aber an 100 sein (Taf. VII Fig. 20). Die Centrosomen wandern an die Pole und es fängt an, sich zwischen ihnen eine Spindelstrahlung bemerkbar zu machen (Taf. VII Fig. 21). Diese Strahlung wird immer deutlicher. Sie kommt durch Umordnung der Alveolen der achromatischen Grundsubstanz des Kerngerüstes (Linin) zustande, ähnlich wie bei *Actinosphaerium* (Hertwig 1898) oder bei *Amoeba binucleata* (Schaudinn 1895). Das Liningerüst ist im Bereich der Pole weitmaschig. Die Waben strecken sich in der Nähe der Äquatorialebene immer mehr in die Länge; bei zunehmender Streckung bilden die Wabenwände die Spindelstreifung, wie Taf. VII Fig. 20 veranschaulicht. Die Querverbindungen zwischen den Spindelfasern werden immer seltener und verschwinden schließlich gänzlich (Taf. VII Fig. 21 u. 22).

Es ist für diese Mitose recht charakteristisch, daß im Stadium der Äquatorialplatte immer Chromosomen an den Seiten hervorstehen (Taf. VII Fig. 21), ganz ähnlich wie Poll dies bei den Spermiogonienmitosen von *Anas boschas* L. abbildet. Die Chromosomen spalten sich in der Äquatorialplatte (Taf. VII Fig. 22) und die Tochterplatten wandern an die Pole. Der Kern schnürt sich in der Mitte durch, und die Chromosomen der Tochterkerne fließen knäulenartig

zusammen. Dabei werden deren Centrosomen wieder central in jede der Kernhälften verlagert (Taf. VII Fig. 23 u. 26). Die beiden Kernteile sind zunächst durch eine ziemlich breite chromatische Brücke miteinander verbunden (Taf. VII Fig. 23 u. 26), dieselbe reißt bald durch. Das Chromatin des Knäuels beginnt wieder sich aufzulockern (Taf. VII Fig. 24), zu vacuolisieren und sich regelmäßig auf dem achromatischen Grundgerüst des Kerns zu verteilen (Taf. VII Fig. 25). Während der ganzen Mitose bleibt die zarte Kernmembran erhalten (Taf. VII Fig. 20, 21, 22).

Bei der Knospenbildung bleibt das Centralkorn des Muttertieres unverändert central liegen (Taf. VII Fig. 10, 11, 12, 16, 20, 26—29). Auch während der Teilung der Knospen sind am Muttertier keinerlei Veränderungen zu bemerken. In nicht seltenen Fällen bleiben die Pseudopodien dabei ausgestreckt und deren Achsenfäden sind deutlich ausgebildet. — Die Knospung selbst kann einige Modifikationen aufweisen. Der ganze Kern kann sich nämlich restlos zu soviel Kernknospen aufteilen, als Binnenkörper in ihm vorhanden sind (Taf. VII Fig. 13, 14). Die ersten Teilungen des Mutterkerns gehen, wie gezeigt wurde, in der Basis vor sich. Weitere Teilungen können aber auch im Kopfe vor sich gehen. Taf. VIII Fig. 13 veranschaulicht solch einen Vorgang. Erst haben sich in der Basis 5 Kernknospen abgeschnürt, schließlich ist das ganze Plasma mit dem Rest des Kerns aus der Basis in den Kopf geflossen. Alles Kernchromatin ist vollständig in den 3 Caryosome enthaltenden Binnenkörpern (Sekundärkerne) angesammelt, das Kerninnere ist fast chromatinfrei. Der Kern steht kurz vor seinem Zerfall in 3 Knospenkerne. In solchen Fällen schwellen die *Wagnerella*-Köpfe stark an und werden fast so groß wie bei der Teilung. Die Kernknospen kommen dann in die Mitte des Kopfes in eine große Vacuole zu liegen (Taf. VII Fig. 27). Häufig verdrängen sie dabei das ruhende Centralkorn des Muttertieres aus seiner centralen Lage (Taf. VII Fig. 28 u. 29). Bei dem Tier Taf. VII Fig. 28 ist der Hauptkern in 4 Knospenkerne, bei Fig. 29 in 7 Knospenkerne zerfallen. Die Knospen liegen in einer Vacuole. Auch deren Kerne können sich wieder ebenso wie oben angeführt wurde, mitotisch teilen. Jede von ihnen enthält central das Caryosom (Nucleocentrosoma). Auch diese Knospen gelangen durch das Protoplasma des Kopfes hindurch nach außen. Der Rest des Protoplasmas des Muttertieres und dessen Centralkorn geht in solchen Fällen zugrunde. Swarczewski hat bei der Arcella-Knospung alle möglichen Modifikationen vom Losschnüren einzelner Knospen bis zum Zerfall des ganzen Kerns im

Knospenkerne beobachtet. Es sind hier bei *Wagnerella* in den verschiedenen Modifikationen der Knospung wohl ganz analoge Vorgänge zu sehen.

Hier möchte ich noch auf eine andere Erscheinung hinweisen, welche zuweilen bei der Knospung auftritt. Es können gleichzeitig 4 oder 5 Knospen im Kopf vorhanden sein. Dieselben bewegen sich amöboid nach verschiedenen Seiten hin. Es geschieht dabei nicht selten, daß sich mit den Knospen zusammen der ganze Kopf der *Wagnerella* ablöst (Textfig. 16) und noch einige Zeit mit ausgestreckten, Achsenfäden enthaltenden Pseudopodien, welche lebhafte Körnchenströmung aufweisen, im Wasser herumflottiert. Das Centralkorn des Muttertieres liegt central in diesen losgerissenen Köpfen. Von solchen abgelösten Köpfen lösen sich die Knospen später ab, gelangen auf den Boden, setzen sich hier fest und wachsen zu Wagnerellen heran. Der Rest des Kopfes mit dem Centralkorn geht stets zugrunde. Dem Centralkorn bei seiner Funktion als kinetisches Zentrum, als zweitem centrosomalem Kern, mangeln jedoch offenbar die zum Leben notwendigen trophischen Eigenschaften; es ist niemals imstande, einen Kern zu regenerieren. Der Verlust des Kopfes und des Centralkorns wird vom Muttertier dagegen leicht wieder ersetzt. Das Plasma des Stieles wölbt nach kurzer Zeit wieder Plasma zu einem Kopf aus dem Stiel hervor, und die im Stiel gebildeten Reservenadeln, sowohl die halbmondförmigen wie die langen geraden Nadeln, gelangen in den Kopf und fügen sich zu der typischen Form des Kopfskelets zusammen. Das Centralkorn wird in solchen Fällen neugebildet, ähnlich wie der Blepharoplast des Trypanosomen (Schaudinn 1904).



Fig. 16. Ablösung des ganzen Kopfes bei der Knospung. Obj. A, Oc. 3. Nach dem Leben.

Tiere, die Knospen gebildet haben, können sich hernach noch teilen, ganz ähnlich wie dies Schaudinn auch von Acanthocystis berichtet. Es wandert dann der Kern in den Kopf und die Teilung geht vor sich, wie im nächsten Absatz näher besprochen werden wird.

b) Die Teilung.

Teilung wurde bei ganz jungen Tieren ebenso wie bei alten, d. h. Tieren mit auffallend langen Stielen, beobachtet. Das jüngste Tier, dessen Teilung beobachtet wurde, hatte erst eine Stiellänge

von 536 μ. Schickt das Tier sich zur Teilung an, so beginnen die kopfwärts gerichteten Ströme im Kopf und Stiel vorzuherrschen. Allmählich greifen sie auch in das Plasma der Basis über. Man kann im Leben beobachten, wie der runde Kern mit der Plasmaströmung fortgeschleppt wird, in den engen Stiel sich einzwängt und sich im Stiel lang auszieht. Der Kern wird mit den lebhaften Plasmaströmen durch den Stiel hindurch in den Kopf transportiert. Die klumpigen, sehr stark färbbaren, ungleichgroßen chromatischen, von einem hellen Hof umgebenen Binnenkörper befinden sich in dem Stadium, in welchem ein morphologisch differenziertes Caryosom nicht nachweisbar ist; sie sind unregelmäßig vacuolisiert (Taf. VI Fig. 8a und b). Der Kopf schwillt durch die Plasmazufuhr stark an (Taf. VIII Fig. 30a—f). Er vergrößert sich, bis alles Plasma aus Basis und Stiel in den Kopf geflossen ist. Die Reservenadeln aus dem Plasma gelangen an die Oberfläche und werden in die Skelethülle des Kopfes eingefügt. Der kugelförmige Kopf plattet sich an der oberen Seite des Kopfes stark ab (Fig. 30g). Der Kern lagert sich central über das Centralkorn (Taf. VIII Fig. 33). Hat der Kern die centrale Lage eingenommen, so teilt sich das Centralkorn selbständig in zwei Teile und diese rücken dann, ähnlich einem Centrosoma, an die beiden Seiten des Kerns. Bei der Teilung ist die radiäre gestreifte Zone des Centralkorns häufig rückgebildet; nach vollendeter Teilung des Centralkorns wird sie wieder neu angelegt. Sassaki (1898) fand frischgeteilte Centralkörner bei *Gymnosphaera albida* und vermutete bereits damals, daß die Teilung des Centralkorns die Kern- resp. Körperteilung einleitet. Er schildert es als verwunderlich, daß solche geteilte Centralkörner stets membranlos waren. Ich kann diesen Befund insofern bestätigen, als bei frischgeteilten Centralkörnern die radiär gestreifte Sphäre rückgebildet und nach vollendeter Kernteilung erst wieder angelegt wird; auch die die radiär gestreifte Sphäre abschließende Membran wird erst dann wieder neu gebildet. Auf die Teilung des Centralkorns folgt die Teilung des Kernes. Oft wandert, wie gesagt, der Kern in den Kopf und teilt sich erst dort (Taf. VIII Fig. 33), häufig jedoch zeigt er die Vorbereitung zur Teilung bereits im Stiel; dies ist für die Beobachtung am günstigsten, da die Beobachtung im Kopf der großen Plasmamenge sehr erschwert ist.

Beginnt der Kern sich zur Teilung anzuschicken, so zieht er sich lang aus und die Alveolen seines achromatischen Kerngerüstes werden dabei regelmäßig parallel in Längsreihen angeordnet. Die plastinreichen Binnenkörper verschmelzen unregelmäßig, häufig netz-

artig, miteinander. Die Maschen dieses Netzes werden länger; je mehr sich der Kern streckt, um so mehr überwiegen auch die Längszüge. Taf. VII Fig. 32a zeigt einen Kern, welcher die erste Vorbereitung zur ersten Teilung bereits bei seinem Eintritt in den Stiel zeigt. Zur Hälfte ist er lang ausgezogen und zeigt in diesem Teil die Längszüge des achromatischen Grundgerüstes. Drei Binnenkörper beginnen hier sich längszustrecken, während die untere Hälfte noch die unregelmäßig verteilten Binnenkörper des ruhenden Kernes im noch unveränderten, achromatischen Grundgerüst aufweist. Bei zunehmender Streckung des Kerns werden alle Binnenkörper längs ausgezogen. Die längs ausgezogenen Binnenkörper spalten sich in eine unregelmäßig große Anzahl von freien, chromatischen Fasern, welche parallel zur Längsachse des Kernes wellenartig verlaufen und das ganze Kerninnere erfüllen (Taf. VIII Fig. 32b). Bei dieser zunehmenden Streckung sind Querverbindungen zwischen ihnen kaum mehr zu finden, die distalen Enden werden häufig durch Chromatinansammlungen verdickt oder umgebogen. In der Kernmitte werden die Fasern chromatinärmer. Diese Plastinfasern (Nucleolarsubstanz Hertwig), in welche die chromatischen Elemente des Kernes eingelagert sind, sind in das in Wabenlängsreihen angeordnete, achromatische Grundgerüst (Linin) des Kernes eingelagert. Allmählich wandert fast alles Chromatin an die distalen Enden der Plastinlängsfäden, bis schließlich deren mittlere Partie fast chromatinfrei wird. Der Kern, welcher in diesem Stadium auf seiner Wanderung den Kopf erreicht hat, schnürt sich sehr schnell in der Mitte durch (Taf. VIII Fig. 37a und b). Die chromatischen Elemente fließen wieder zusammen und verteilen sich auf dem achromatischen Gerüstwerk, ohne daß es zur Bildung von Chromosomen oder Äquatorialplatte käme. Die Kernmembran bleibt während der Teilung erhalten (Taf. VIII Fig. 32a, 35, 37c).

Die Teilung des Centralkorns geht stets dieser Teilung des Kerns bei *Wagnerella* vorauf. Das Centralkorn schnürt sich durch; zwischen den beiden Teilhälften des selbständig geteilten Centralkorns kommt es zur Teilung des Kerns. Diese Teilungen des Centralkorns und Kernes können nacheinander sich in der gleichen Weise wiederholen, bis ein 8- oder 10kerniges Stadium erreicht wird (Taf. VIII Fig. 34a und b, 35). Für das Studium der Kernstrukturen sind die ersten beiden Kernteilungen günstiger. Bei den fortgesetzten Kernteilungen werden die Kerne viel kleiner und deren Chromatin ist so verklebt, daß die ganzen Verhältnisse dadurch undeutlicher erscheinen; es zeigt dies die Kernteilung Taf. VIII

Fig. 37c und d, welche einem 8kernigen Stadium entnommen sind.

Die mitosenartige Teilung eines „polyenergiden“ Kerns (Hartmann) erinnert lebhaft an die Zweiteilung von *Aulacantha* (Borgert 1900) und besonders an die des Macronucleus von *Didinium nasutum* (Thon 1905). Die *Wagnerella*-Teilung ist vielleicht als ein etwas weniger primitiver Kernteilungsmodus aufzufassen als der von *Didinium*, weil hier bereits der erste Beginn einer polaren Differenzierung des im ruhenden Kerne unregelmäßig verteilten Chromatins kurz vor der Durchschnürung des Kerns vorhanden ist.

Thon hat bei der Schilderung und Deutung seiner Befunde „die außerordentliche Wichtigkeit und Selbständigkeit der Nucleolarsubstanz“ (Plastin) betont. „Sie bringt die Teilung des Kernes hervor, indem sie sich zu einem Netz konzentriert, aus dem eine Spindel hervorgeht; die Fasern dieser in Linin eingebetteten Spindel wachsen dann, so daß das Chromatin in Körner zerfällt; sie teilt die Chromatinmasse und den Kern in zwei gleiche Hälften“.

„Dort wo es zur Bildung einer spindelartigen Figur bei der Kernteilung kommt, ist sie gewöhnlich bloß aus dem Linin hergestellt (*Actinosphaerium* R. Hertwig, *Ceratium* Lauterborn, *Noctiluca* Doflein).“ Dasselbe ist — und das scheint mir prinzipiell wichtig — auch bei der Teilung der Knospenkerne von *Wagnerella borealis* der Fall, wie p. 171 beschrieben wurde. „Der beschriebene Teilungsmodus jedoch ist ein spezieller Fall der akinetischen Kernteilung, vielleicht der erste Anlauf zu der Mitose, wo das gesamte Chromatin durch den Mechanismus der Nuclearsubstanz in zwei quantitativ gleich große Hälften zerlegt wird.“

Bei der Teilung der Knospenkerne funktioniert das spätere Centralkorn zunächst als echtes Centrosoma bei deren Mitose (Taf. VII Fig. 21 u. 22). Die eben geschilderte Teilung der *Wagnerella* wird zwar auch stets durch eine Teilung des Centralkorns eingeleitet. Das Centralkorn wandert an die beiden Seiten des Kerns ähnlich wie ein Centrosoma (Taf. VIII Fig. 37a und b), ohne jedoch bei der Kernteilung des Hauptkerns die Funktion eines Centrosomas zu übernehmen. Es teilt sich vielmehr selbständig und bleibt auch ferner unabhängig vom Hauptkern, ähnlich wie der Blepharoplast bei der Teilung von Trypanosomen (Schaudinn 1904, Froschtrypanosomen Athias u. Franca nach Hartmann u. Prowazek 1907). Das Centralkorn verhält sich bei dieser Fortpflanzungsart durch selbständige Teilung wie ein Kern. Auch eine jede der folgenden Kernteilungen wird durch eine Teilung des Centralkorns

eingeleitet, ohne daß das Centralkorn in nähere Beziehungen zum Hauptkern träte (Taf. VIII Fig. 37 b). Eine Einwirkung des Centralkorns auf den Kern ist insoweit zu bemerken, als der ruhende Kern nach dem Centralkorn hin häufig längs ausgezogen erscheint (Taf. VIII Fig. 37 f, Taf. X Fig. 53). Der Kernteilungsmodus des Hauptkerns ist offenbar viel primitiver als die Teilung des Knospenkerns der *Wagnerella* oder die komplizierte Mitose bei der Teilung von *Acanthocystis*, bei welcher das Centralkorn die Rolle eines Centrosoms übernimmt.

Auf die Teilung des Centralkorns und des Kerns folgt der Beginn der Zellteilung, welche durch eine Einkerbung von außen her mitsamt der Nadelhülle zwischen den Kernen deutlich wird. Die Zellteilung bleibt zunächst unvollständig (Taf. VIII Fig. 34 b, 36, 37). Auf diese sich wiederholenden Zweiteilungen des Centralkorns, und jedesmal auf diese folgend, des Kerns, bis zum 8 bis höchstens 10kernigen Stadium, folgt jedesmal eine nicht ganz vollständige Zellteilung (Taf. VIII Fig. 34, 37); die einzelnen Zellteilstücke bleiben zunächst miteinander in Verbindung (Taf. VIII Fig. 31). Die gemeinsame Nadelhülle zeigt entsprechend den Zellteilungen Einkerbungen (Taf. VIII Fig. 30 h), so daß der *Wagnerella*-Kopf in diesem Stadium einer *Rhaphidiophrys elegans* ähnlich ist. Ich konnte bei zum Vergleich herangezogenen *Rhaphidiophrys elegans* beobachten, daß dort ebenfalls die Kolonie durch fortgesetzte Zweiteilung entsteht. Ich werde darüber an anderer Stelle berichten.[1]) In jedem Teilstück liegt central, sowohl beim geteilten *Wagnerella*-Kopf, als auch bei der Kolonie von *Rhaphidiophrys elegans*, das Centralkorn, ein direkter Abkömmling des Muttercentralkorns, exzentrisch der Kern (Taf. VIII Fig. 36). Einige Teilstücke der *Wagnerella* teilen sich schneller wie andere, so daß dadurch zeitweise ungleich große Teilstücke zustande kommen, etwa wie bei Taf. VIII Fig. 31, 36. Bereits auf diesem Stadium senden die Teilstücke Pseudopodien aus (Taf. VIII Fig. 36). Die Pseudopodien haben auch hier Achsenfäden, welche sich bis an das Centralkorn heran verfolgen lassen. Die einzelnen Teilungen des Centralkorns und der Kerne gehen sehr schnell vor sich und ich konnte aus diesem Grunde die Kern- resp. Centralkornteilung selbst nur dreimal beobachten. Vom Beginn der ersten

[1]) Auch die Teilung von *Clathrulina elegans* verläuft ganz ähnlich. Das zunächst einkernige Tier teilt sich innerhalb der Schale des Muttertieres; die Teilstücke bleiben zunächst zusammenhängend in der Mutterschale und entsenden von hier aus ihre Pseudopodien. Jedes Teilstück enthält central einen Kern, jedoch kein gesondertes Centralkorn. Der Kern stellt dort ein Amphicaryon dar, in welchem central das Centralkorn enthalten ist.

Kernteilung bis zum Ende der Zellteilung vergehen gewöhnlich 4—6 Stunden.

Meist fällt der geteilte Kopf des Mutterkerns ab, ehe die Zellteilung der Teilstücke vollständig durchgeführt ist, etwa wie auf dem Taf. VIII Fig. 30 i abgebildeten Zustande der Teilung. Das Protoplasma der Teilstücke ist durch Plasmabrücken miteinander in Verbindung (Taf. VIII Fig. 37 b). In jedem Teilstück liegt, wie gesagt, exzentrisch ein chromatinreicher Kern, central das Centralkorn (Taf. VIII Fig. 36). Kerne und Centralkörner der verschiedenen zusammenhängenden Teilstücke befinden sich im gleichen Zustand der Ausbildung. Das Centralkorn hat häufig die radiärgestreifte Sphäre noch nicht wieder angelegt; dann ist dies bei dem Centralkorn aller Teilstücke gleichmäßig der Fall; oder das Centralkorn, welches auch auf diesem Stadium bereits wieder beginnt, sich regelmäßig cyclisch zu verändern, hat das Chromatin stark aufgelockert, wie z. B. auf Taf. VIII Fig. 38 abgebildet ist, oder zeigt andere, auf p. 166 beschriebene Zustände der Ausbildung seines Auftretens. Charakteristisch ist hier, daß in allen zusammenhängenden Teilstücken das Centralkorn den gleichen Ausbildungsgrad aufweist.

Die Pseudopodien sind in den Teilstücken gleichmäßig gut ausgebildet; sie enthalten sehr oft Achsenfäden (Taf. VIII Fig. 38), welche, ebenso wie auf p. 156 für normale Wagnerellen beschrieben wurde, hier bis ans Centralkorn zu verfolgen sind. Die Pseudopodien zeigen eine lebhafte Körnchenströmung.

Diese geteilten Köpfe, welche also alles Plasma des Muttertieres enthalten, lösen sich vom Stiel des Muttertieres los. Kern und Centralkorn der Teilstücke sind direkt durch Teilung aus den betreffenden Organellen des Muttertieres hervorgegangen. — Die Teilstücke flottieren häufig noch eine Zeitlang zu solcher Kolonie verbunden im Wasser umher und erinnern dann sehr stark an die Kolonien der *Rhaphidiophrys elegans* Hertw. u. Less. Ja im Anfang meiner Studien, ehe ich die Entwicklung von *Wagnerella* erkannt hatte, hielt ich solche Kolonien gelegentlich für marine *Rhaphidiophrys elegans*. Die Zellteilung der *Wagnerella* schreitet fort und nach einigen Stunden lösen sich die einzelnen Teilstücke aus dem kolonialen Verbande des geteilten *Wagnerella*-Kopfes los (Taf. VIII Fig. 38) und fallen zu Boden. Hier beginnt das Teilstück einen Stiel zu bilden. Es wölbt sich eine breite Plasmapartie vor, die einem sehr stark verbreiterten Pseudopodium ähnelt und dieses beginnt die auf p. 150 beschriebene organische Stielsubstanz auszuscheiden. Zugleich beginnt im Plasma der Prozeß der Nadelbildung.

Der Kern rückt mit der sich vorwölbenden Plasmapartie basalwärts; der basale Teil wird zur Basis verbreitert und an der Unterlage festgeheftet. — Diese Unterlage muß offenbar rauh sein. Denn es gelang mir nie, bei meinen Züchtungsversuchen der geteilten *Wagnerella*-Köpfe die Tiere zum Festheften an den glatten Glaswänden der Zuchtgefäße zu veranlassen. Dagegen setzten sich die Teilstücke fest und wuchsen weiter, wenn ich Gesteinstücke oder Serpulidenröhrenstücke auf den Boden der Zuchtgefäße legte.

In seltenen Fällen lösen sich die einzelnen Teilstücke los, solange noch der geteilte Kopf am Muttertiere festsitzt; ja, mitunter kommt es sogar vor, daß einzelne, fertig geteilte Stücke vom Muttertiere sich loslösen, während die anderen Schwesterteilstücke am Muttertiere ansitzend, sich noch weiter teilen und erst nacheinander abfallen.

Die aus diesen Teilstücken hervorgehenden Tiere sind in Bau und Größenverhältnissen den Muttertieren gleich.

2. Gamogonie (?).

a) Flagellosporenbildung (Gametenbildung?).

Bei Beginn der Sporenbildung ist der in der Basis liegende ruhende Kern stark färbbar. Kleine Chromatinkörnchen, durch eine opake, hyaline Plastinmasse miteinander verklebt, überdecken fast das ganze Kerngerüst, so daß dessen Struktur sehr schwer sichtbar ist. Die Binnenkörper dagegen haben etwas an Färbbarkeit verloren, sie sind chromatinärmer geworden. In den Binnenkörpern sind eine große Menge ungleich großer Vacuolen wahrzunehmen (Taf. IX Fig. 39). Einige Binnenkörper lagern peripher im Kern. Die Kernmembran wird erheblich dünner. In nächster Umgebung des Kerns treten nun stark lichtbrechende, mit Kernfarbstoffen sich sehr stark färbende, wohl individualisierte 1 bis 2 μ große Körnchen auf (Taf. IX Fig. 40). Ich habe einen Austritt von Körnchen aus dem Kern, etwa wie bei *Difflugia urceolata* (ZUELZER 1904) niemals beobachten können. Daher habe ich keinerlei Anhaltspunkte für die Annahme, daß morphologisch individualisierte Chromatinkörnchen aus dem Kern austreten. Vielleicht sind es gelöste Stoffe, die vom Kern ins Plasma gelangen. Obgleich man dem Hauptkern bereits im Leben an der Art der Verteilung und Lichtbrechung seiner Binnenkörper, und auf Präparaten solcher Stadien an seiner diffusen Färbbarkeit (Taf. IX Fig. 39) ansehen kann, wo das Auftreten solcher Körnchen in der Umgebung des Hauptkerns zu erwarten ist, gelang es mir

doch nicht, etwas über das erste Auftreten dieser Körnchen zu ermitteln. Konstatieren kann ich nur, daß in unmittelbarster Umgebung des Kerns einige Körner auftreten, die sich rapide vermehren. Vielleicht ist es anfangs auch nur ein Körnchen, das sich schnell durch Teilung vermehrt. Wie gesagt, ich vermag über die Herkunft der Körnchen nichts weiter anzugeben, wie daß sie direkt neben dem Kern plötzlich da sind (Taf. IX Fig. 40). Die Körnchen vermehren sich ungemein schnell (Taf. IX Fig. 41). Sie sind zunächst kleine, runde, sehr stark färbbare, membranlose Chromatinbrocken, erheblich stärker färbbar als es die chromatischen Bestandteile des Kerns auf diesem Stadium sind. Diese kleinen Chromatinbröckchen nehmen Flüssigkeit aus dem umgebenden Plasma auf; bald ist in denselben central eine Vacuole zu bemerken (Taf. IX Fig. 47). Gewöhnlich ist eine, seltener 2 bis 3 Vacuolen vorhanden. In vereinzelten Fällen ist die Kugel noch kompakt, wenn sich von ihr ein überaus kleines, aber sehr deutlich wahrnehmbares, mit Hämalaun oder Eisenhämatoxylin sehr distinct färbbares Körnchen abschnürt (Taf. IX Fig. 47). Dieses Körnchen teilt sich, und seine beiden Teilstücke wandern an den beiden Seiten der Chromantinkugel. Die Vacuolen im Innern der Chromatinkugel fließen zu einer zusammen und diese nimmt in der Kugel eine centrale Lage ein; nun streckt sich zwischen diesen beiden kleinen Körnchen, welche ich als Centriolen bezeichne, diese Chromatinmasse der Kugel schnell in die Länge. Die helle Vacuole vergrößert sich und drängt das Chromatin auseinander (Taf. IX Fig. 47); schließlich kommt bei weiterer Streckung die Figur einer sehr charakteristischen und von allen mir bekannten, abweichend gebauten Mitose zustande (Taf. IX Fig. 47). Achromatische Fäden zwischen den beiden Centriolen konnte ich bei der Kleinheit nicht unterscheiden; die kleinen Spindeln werden nur 5–6 μ groß, doch sind sie sehr charakteristisch und besonders mit Hämalaun oder Heidenhain'schem Hämatoxylin sehr distinkt gefärbt, dem Studium zugänglich. Haben sich die beiden Chromatinstreifen in die Länge gestreckt, so verbreitert sich in der Mitte, dort wo bei anderen Mitosen eine Äquatorialplatte sich zu bilden pflegt, die mittlere Vacuole und drängt die beiden Chromosomen in der Mitte auseinander (Taf. IX Fig. 47). Die beiden Chromosomen, wenn ich die chromatischen Elemente dieser Spindeln so bezeichnen darf, verschmelzen, in der Mitte die Vacuole zwischen sich, und das Centriol legt sich dabei seitlich dicht an das Chromatin an (Taf. IX Fig. 47). Das Chromatinkügelchen beginnt sofort wieder sich zu teilen, indem sich zuerst das Centriol teilt. Sehr

häufig teilt sich das Centriol bereits, ehe der vollständige Ruhezustand erreicht, sogar mitunter, wenn das Körnchen noch im Spindelstadium sich befindet (Taf. IX Fig. 46). In vereinzelten Fällen konnte ich unter diesen Mitosen 3 polige beobachten (Taf. IV Fig. 46), häufiger heteropole Spindeln. Bei letzteren war das Centriol dem Äquator auf der einen Hälfte fast um die Hälfte der Entfernung näher gelegen wie auf der anderen Seite.

Die Körnchen, die in der nächsten Umgebung des Kernes auftreten, vermehren sich mittelst dieser mitotischen Teilung ungemein schnell und erfüllen bald das ganze Tier in den verschiedensten Stadien ihrer Teilung; sie wandern von der Basis in den Stiel und von hier in den Kopf (Taf. IX Fig. 41—44). Sie liegen im Protoplasma und zwar jedes in einer Vacuole (Taf. IX Fig. 46).

Die vielen Stadien der Entwicklung dieser Körnchen konnte ich im Leben häufig beobachten; ebenso konnte ich die verschiedenen Bilder dieser Mitosen und deren Verteilung im ganzen Tier, nicht nur auf Schnittpräparaten, sondern auch sehr gut auf Totopräparaten, mit Hämalaun gefärbt studieren. Auf Schnittpräparaten mit HEIDENHAIN'schem Eisenhämatoxylin gefärbt, sah ich nicht mehr, als auf Totopräparaten, so sehr ich mich auch bemühte, auf Schnittpräparaten in irgend einem Stadium der Teilung zwischen den beiden Centriolen eine Zentralspindel deutlich zu erkennen.

Hand in Hand mit der zunehmenden Vermehrung dieser Körnchen geht die Degeneration des Hauptkerns. Das Plastin ist diffus im Kern verteilt, die Chromatinbrocken unregelmäßig darin eingelagert; der Kern schrumpft stark. Diese Schrumpfung ist im Leben gut zu verfolgen, und nicht etwa ein Kunstprodukt, das beim Präparieren entsteht. Die Binnenkörper sind stärker vacuolisiert und blasser gefärbt (Taf. IX Fig. 45). Die Degeneration schreitet bei zunehmender Vermehrung der Körnchen fort, bis schließlich vom ganzen Kern nur etliche opake Brocken (Taf. IX Fig. 43) oder eine plastinreiche, schwach chromatische Kugel übrig ist (Taf. IX Fig. 44). Die Ströme des deutlich alveolär gebauten Plasmas sind dabei kopfwärts gerichtet, und das Plasma fließt allmählich in den sich dadurch vergrößernden Kopf (Taf. IX Fig. 43—44). Häufig bleibt der degenerierte Kern, von einer Portion Plasma umhüllt, exzentrisch in der Basis liegen, löst sich vom übrigen Plasma los und zerfällt. In anderen Fällen werden die Kernreste noch ein Stück in den Stiel fortgeschleppt, schnüren sich aber dann hier los und zerfallen schließlich. Vorgänge, wie sie ähnlich auch WINTER (1907) bei der Gamogonie von *Polystomella* beschrieben hat.

Jedes der kleinen Körnchen umgibt sich schließlich mit einer Plasmaportion, und der ganze Weichkörper der *Wagnerella* zerfällt ausfließend in eine so große Menge Schwärmsporen als Chromatinkörner vorhanden sind. Dieselben bilden 2 Geißeln und schwärmen aus. Den Kern eines jeden Schwärmers bildet eines jener aus der oben geschilderten Mitose hervorgegangenen Körner. Im Muttertier bleiben Plasmareste mit dem Rest des Primärkerns und dem Centralkorn zurück, welche zugrunde gehen. Leider war es mir unmöglich, das weitere Schicksal dieser Flagellosporen zu verfolgen. Ich habe den Prozeß des Ausschwärmens dieser Flagellosporen selbst im Leben nur 2 mal beobachtet, den Beginn der Bildung dieser Sporenkerne und deren Entwicklung dagegen nicht selten. Bei Beginn der Sporenbildung stößt das Protoplasma alle Fremdkörper, Nahrungsreste usw. aus und daher sind besonders diese Stadien für das Studium der Plasmastrukturen geeignet.

Ich fand sporenbildende Individuen gleichzeitig und am selben Standorte sowohl mit normalen, als auch mit sich teilenden und mit knospenbildenden Exemplaren. — Die Flagellosporen des gleichen Tieres copulieren niemals miteinander. Leider konnte ich nicht 2 Tiere lebend gleichzeitig erhalten, welche fertige Flagellosporen entwickelt hatten. Und deshalb muß ich die wichtige Frage: sind diese Flagellosporen Gameten und sind hier die Geschlechtsvorgänge in der *Wagnerella*-Entwicklung zu suchen, unbeantwortet lassen.

Léger (1907) hat bei den Schizontenkernen der Gregarine *Ophryocystes caullery* „Grains caryosomiens“ beschrieben und abgebildet, welche sich vom Caryosom losschnüren und die Centriole bilden. Denselben Vorgang beschreibt Keysselitz (1908) bei *Myxobolus pfeifferi*; er sah vom Caryosom durch Knospung das Centriol sich abschnüren. Ich möchte auf die Analogie dieser Befunde mit denen bei der Entwicklung meiner Sporenkerne hinweisen. Ich fasse nämlich diese kleinen membranlosen, chromatinhaltigen, kernartigen Gebilde als Caryosome auf, welche sich in selbständiger Weise teilen. Bei deren Entwicklung vermehrt sich ihr Chromatin und schließlich wachsen sie sich zu Kernen aus. — Ich glaube, daß die so gebildeten Sporen Gameten darstellen. Die Sporogonie ist verhältnismäßig selten, sie wurde nur bei 6—8 Proz. von etwa 3000 untersuchten Individuen beobachtet. Sowohl diese Tatsache als auch die Ähnlichkeit dieser Verhältnisse mit denen bei Foraminiferen (z. B. Winter 1907) scheinen mir eine Stütze für die Annahme zu sein, daß es sich hier um Geschlechtsvorgänge handelt.

Ich möchte erwähnen, daß ich mich lange Zeit bemüht habe, bei den sich lebhaft mitotisch teilenden Kernen, welche später die Kerne der Flagellosporen liefern, Reduktionsteilungen zu finden, welche dann in diesem Stadium zu suchen wären, um eventuell wenigstens durch diese Tatsache meiner Auffassung von der gamogenen Natur der Flagellosporen eine Stütze zu geben. Doch war mir dies sicherzustellen wegen der Kleinheit der diesbezüglichen Objekte unmöglich.

Ich vermute, daß hier leicht der Einwurf gemacht werden kann, es handele sich um Parasiten und nicht um zur *Wagnerella* gehörige Entwicklungsformen. Diesem Einwand kann ich nur entgegnen, daß ich alle Übergänge beobachten konnte, vom ersten Auftreten der Körnchen in nächster Umgebung des Kerns bis zur vollständigen Ausbildung der Flagellosporen. Ich fand derartige Körnchen auf keinem anderen Entwicklungsstadium der *Wagnerella*, und sich teilende oder knospende Individuen wurden, wie gesagt, oft zusammen und dicht neben diesen Stadien gefunden. Auch müßten Parasiten wohl immer vom Kopfe her eindringen, da in der Basis kein Zugang für dieselben möglich ist. Ferner zeigt das Protoplasma eine normale Beschaffenheit; es ist nicht gequollen und zeigt bei diesen Stadien eine überaus deutliche Wabenstruktur. Es sind auf meinen Präparaten dieser Stadien keinerlei pathologische Veränderungen wahrzunehmen.

Die *Wagnerella* tritt regelmäßig in 2 Formentypen auf (s. Taf. VI Fig. 1, Taf. IX Fig. 48; Textfig. 1 p. 140, Textfig. 2 p. 142), zeigt also einen typischen Dimorphismus. Ich konnte beobachten, daß aus den Teilstücken (p. 179) wie aus den Knospen (p. 170), wie in dem Vorstehenden geschildert wurde, immer wieder den Muttertieren gleiche Individuen hervorgehen. Was aus diesen Sporen sich entwickelt, konnte ich, wie gesagt, nicht ermitteln. Die in dem Folgenden zu schildernde Generation unterscheidet sich durch ihre größeren Dimensionen von der vorhergehenden. Ich vermute, daß diese Generation aus diesen Flagellosporen (Gameten) ihren Ursprung nimmt. Auch hat dieselbe keine Fortpflanzungsart, welche mit dieser Sporogonie identisch wäre. In dieser Tatsache liegt eine weitere Stütze für meine Annahme, daß die Sporenbildung eine Gamogonie darstellt, besonders wenn man wieder die Verhältnisse bei Foraminiferen berücksichtigt.

B. Die dicke Generation.

Ich konnte diese Generation in größeren Mengen nur im Juni und Anfang Juli 1905 beobachten. Im Jahre 1904 bei meinem ersten

Aufenthalt in Neapel kamen mir gelegentlich etwa 3 oder 4 Tiere zu Gesicht. Ich hielt diese damals zuerst für Mißbildungen. Die Tiere sind erheblich seltener wie die der vorher geschilderten Generation. Ich habe im ganzen ca. 150 Exemplare untersuchen können. Sie stehen meist zu mehreren vereinigt zusammen, oft vermischt mit den dünnen Wagnerellen. Der Stiel dieser Tiere wird bis 2500 μ lang. Die Verbreiterung des Stiels nach dem Kopf zu ist erheblich stärker als die bei der dünnen Generation (Textfig. 2 p. 142). Der Stiel wird am apikalen Teile bis 100 μ breit. Es sind vornehmlich die Dimensionen, durch welche sich das Tier von der dünneren Generation unterscheidet (Textfig. 1 p. 140). In den wesentlichen Punkten des Baues stimmen diese beiden Formen miteinander überein (Taf. IX Fig. 48). Ich gehe deshalb auf Bau des Protoplasmas, Pseudopodienbildung, Nahrungsaufnahme, optisches und chemisches Verhalten der Hülle, Kristalle usw. hier nicht näher ein und verweise auf das p. 144—169 Gesagte als auch für diese Generation gültig. Bemerken möchte ich, daß entsprechend der erheblicheren Größe, Centralkorn und Kern größer sind als bei der vorigen Generation (Taf. IX Fig. 50, 51 a u. b, Taf. X Fig. 1), (Centralkorn 18 μ, Kern 58 μ im Durchmesser) und das Studium derselben besonders im Leben dadurch erheblich erleichtert wird. Sowohl für die Lage als auch für den Bau des Kerns und die cyclischen Veränderungen des Centralkorns gilt für diese Generation dasselbe wie das für die vorige Gesagte. Bemerkenswert ist die stärkere Strahlung vom Centralkorn aus in den Stiel; dieselbe ist hier deutlicher vorhanden und tritt fast stets auf (Taf. IX Fig. 49—51 a, Taf. X Fig. 53 u. 56b). Die Strahlung beginnt in der centralen Partie des Centralkorns; sie verbreitert sich von hier nach der Membran der radiärgestreiften Sphäre hin in der Form eines Dreiecks und setzt sich durch die Sphäre hindurch in den Stiel fort (Taf. IX Fig. 50, 51 a u. b). Im Leben ist die Partie der Sphäre zwischen den beiden gleichen Seiten des Dreiecks etwas stärker lichtbrechend, auf Präparaten gewöhnlich ein wenig stärker färbbar. Bei der dünnen Generation wurde die Strahlung im Stiel seltener beobachtet. Bei der Strahlung im Stiel sind die Plasmawaben auch hier reihenförmig angeordnet (Taf. IX Fig. 50). In den Pseudopodien sind Achsenfäden vorhanden und können von den Pseudopodien bis ans Centralkorn verfolgt werden, von wo sie ihren Ursprung nehmen. Das Protoplasma füllt den Stiel nicht ganz aus (Taf. IX Fig. 48, Taf. X Fig. 54 u. 56b). Während des vegetativen Lebens färbt sich das Plasma mit Kernfarbstoffen erheblich stärker als das der dünnen Generation. Es hat dies seinen

Grund in einer Menge feiner chromatischer Körnchen und Bröckchen, welche unregelmäßig im ganzen Protoplasma verteilt sind (Taf. X Fig. 54b obere Stielpartie). Größe und Anordnung derselben schwankt. Man kann sie etwa als vegetative Chromidien bezeichnen. Ihr Auftreten schwankt mit den jeweiligen Ernährungsbedingungen, unter denen sich das Tier befindet; doch konnte ich nähere Ermittelungen hierüber nicht anstellen.

1. Agamogonie.

a) Teilung.

Teilung konnte ich bei dieser Generation nur 3mal beobachten. Sie verlief ebenso wie bei der vorher geschilderten Generation. Der Kern wandert in den Kopf. Auf die Teilung des Centralkorns folgt die mitosenartige Teilung des Kerns, welche p. 175 geschildert wurde. Dieser Vorgang wiederholt sich, bis der Kopf in 8, höchstens 10 Teile geteilt ist (Taf. X Fig. 52). Das im neugebildeten Teilstück (Taf. X Fig. 53) central liegende Centralkorn ist von einem hellen Hof umgeben. Rings um denselben liegt im Plasma eine dichte Anhäufung von Chromatinkörnchen. Das Protoplasma ist ziemlich regelmäßig vacuolisiert; die äußere schmale Plasmapartie dagegen ist vacuolenlos und hyalin, so daß man hier von einer Sonderung von Ecto- und Entoplasma sprechen kann (Taf. X Fig. 53). Vom Centralkorn ist eine Strahlung durch Ento- und Ectoplasma hindurch erkennbar. Eine Einwirkung des Centralkorns auf den exzentrisch liegenden Kern macht sich auch hier, ähnlich wie bei *Acanthocystis* (SCHAUDINN 1896) bemerkbar, indem der Kern häufig nach dem Centralkorn zu etwas spitz ausgezogen ist, wie bei dem fertig ausgebildeten Teilstück Taf. X Fig. 53 gezeigt ist.

Die Achsenfäden der Pseudopodien durchziehen Ecto- und Entoplasma und lassen sich bis in das Centralkorn heran verfolgen. Die von der geteilten Skelethülle des Mutterkopfes umgebenen Teilstücke lösen sich los, setzen sich am Boden fest und wachsen zu Wagnerellen aus, welche im Bau und Dimensionen den Tieren dieser dicken Generation gleichen.

b) Die Schizogonie.

Die dicke Generation ist nur kurze Zeit hindurch einkernig. Einkernig sind nur junge d. h. kurzstielige Exemplare; ältere langgestielte fand ich einkernig ganz vereinzelt. Der bläschenförmige

Kern liegt, wie schon vorher angeführt wurde, und wie das auch bei der dünnen Generation der Fall ist, in der Basis (Taf. IX Fig. 48). Er zeigt ein achromatisches Gerüstwerk, in welchem feine Chromatinkörnchen eingelagert sind. Die Kernmembran ist fest, deutlich doppelt konturiert (Taf. X Fig. 57). Im Kern unregelmäßig verteilt liegen die chromatischen Binnenkörper, welche sich durch fortgesetzte Zweiteilung vermehren, bis schließlich 60—100 ca. 4 μ im Durchmesser große Binnenkörper den Kern erfüllen (Taf. X Fig. 57). Die einzelnen Binnenkörper sind im Leben sehr stark lichtbrechend und von einem hellen Hof umgeben. Sie sind sehr chromatinreich und färben sich sehr stark mit allen Kernfarbstoffen. Das Chromatin verdeckt meist jede feinere Struktur; ein Caryosom ist in ihnen nicht deutlich nachweisbar (Taf. X Fig. 57). Die Kernmembran löst sich auf und der Kern zerfällt simultan in die ganze große Anzahl seiner Binnenkörper. Meist erfolgt dieser Zerfall, wenn das Tier noch jung, sein Stiel etwa 500 μ lang ist. Die Binnenkörper gelangen ins Protoplasma (Taf. X Fig. 54, Fig. 58a) und beginnen hier sehr bald sich aufzulockern (Taf. X Fig. 58b). Anfangs erinnert dieser Prozeß an die p. 162 beschriebene Auflockerung und Vermehrung der Binnenkörper vor der Knospenbildung im Kern der dünnen Generation. Die membranlosen Binnenkörper, welche jetzt frei im Plasma liegen (Taf. X Fig. 54 und Fig. 58a), nehmen Flüssigkeit aus dem umgebenden Protoplasma auf (Taf. X Fig. 58b). Die Flüssigkeitsvacuolen legen sich von außen an die Chromatinbrocken an und dringen von hier ins Innere der Chromatinbrocken ein. Bei fortschreitender Auflockerung durch Flüssigkeitsaufnahme aus dem Plasma wird in ihnen bald ein achromatisches Gerüstwerk erkennbar, in welches die Chromatinkörner eingelagert sind (Taf. X Fig. 58c—h); central liegt von einem sehr schmalen, hellen Hof umgeben ein Caryosom (Taf. X Fig. 58d—h). Der Vorgang ist also ganz ähnlich, wie er auf p. 162 bei der Auflockerung der Binnenkörper der dünnen Generation, bei dieser aber noch innerhalb des Mutterkernes als Verbereitung für die Knospung geschildert wurde. Es sind günstige Exemplare, bei denen man central das Caryosom erkennen kann und bei denen das Chromatin mehr peripher liegt (Taf. X Fig. 58f—h). Bei vielen Exemplaren verdeckt und verklebt auch hier das Chromatin die Strukturen (Taf. X Fig. 58e) und mit solchen Exemplaren kann man dann nicht viel anfangen. Um die feinen Strukturen erkennen zu können, muß man möglichst feine Schnitte anfertigen und diese mit Hämalaun oder Heidenhain'schem Eisenhämatoxylin tingieren. Der Chromatingehalt dieser Kerne schwankt eben stark, ebenso wie

besonders das Verhältnis von Plastin und Chromatin (Taf. X Fig. 58h). Bei einigen aufgelockerten Chromatinbrocken ist sehr deutlich bereits ein achromatisches Grundgerüst erkennbar, in dessen Knotenpunkten Chromatinkörner eingelagert sind oder in denen vereinzelt Chromatinbröckchen liegen (Taf. X Fig. 58g), bei anderen wieder ist der Chromatingehalt ein sehr hoher, wie auf Taf. X Fig. 58h der erste Kern, bei noch anderen schließlich ist das Caryosom so groß, daß bei der Teilung desselben kaum das achromatische Grundgerüst erkennbar ist (Fig. 58i die ersten beiden Kerne). Das herangewachsene Caryosom teilt sich mitotisch intranuclear mit Hilfe eines Centriolenpaares in zwei Teile (Taf. X Fig. 58i). Die wichtige Frage nach der Herkunft dieser Centriolen, welche für die Auffassung des Centralkorns von Wert wäre, kann ich nicht beantworten. Es ist unmöglich zu entscheiden, ob diese Centriolen sich durch Knospung vom Carysom abschnüren, oder ob ein Centriol bereits ausgebildet im Carysom vorhanden war und durch den mehr oder weniger reichen Chromatingehalt des plastinreichen Caryosoms verdeckt blieb.

So kommen auch bei der ersten Teilung des Caryosoms je nach Größe und Chromatingehalt desselben recht verschiedene Bilder zustande (Taf. X Fig. 58i). Diese Kerne nun wachsen sehr schnell heran, vergrößern sich und besonders ihr Chromatingehalt vermehrt sich. Und zwar nicht nur das Chromatin, welches in das immer deutlicher werdende achromatische Grundgerüst (Taf. X Fig. 58l) eingelagert ist, sondern auch das Chromatin der Caryosome (Taf. X Fig. 58k). Die Caryosome werden bei Hämatoxylinfärbungen etwas blasser gefärbt, erscheinen opaker und haben einen rötlichen Schein, während das im achromatischen Kerngerüst unregelmäßig verteilte Chromatin sich stärker und mit Hämatoxylin mehr blau färbt.

Die Caryosome vermehren sich intranuclear durch fortgesetzte Zweiteilung (Taf. X Fig. 58k—q); dieselbe geht nicht synchron vor sich. Bei diesen weiteren Teilungen ist durch den zunehmenden Chromatingehalt vom Teilungsmodus der Caryosome selbst noch weniger zu sehen als bei deren erster Teilung (Taf. X Fig. 58i), so daß ich über die Centriolenbildung auch hier nichts weiteres in Erfahrung bringen konnte. Gehalt und Verteilung des Chromatins ist recht ungleichmäßig. Während der fortschreitenden Teilungen des Caryosoms und beim zunehmenden Wachstum der Kerne tritt eine dünne Kernmembran auf (Taf. X Fig. 58k, 58m—q). Das über das ganze achromatische Kerngerüst verteilte Chromatin (Taf. X Fig. 58m, n) wird allmählich immer mehr in die Caryosome verlagert, die dadurch immer kompakter werden. Das Kerngerüst dagegen wird

immer chromatinärmer, wodurch dessen alveolärer Bau deutlicher hervortritt. Im Kerngerüst sind schließlich meist nur noch in den Wabenkanten feine Chromatinkörnchen eingelagert (Taf. X Fig. 58 p und q). Die Caryosome werden auch hier von einem hellen, chromatinarmen Hof umgeben, und die Waben des achromatischen Grundgerüstes bilden einen Alveolarsaum (Tafel X Fig. 58 m—q) um jedes Caryosom. Wie bereits gesagt wurde, teilen sich die Caryosome nicht synchron; ihre verschiedene Größe ist zu verstehen, da sie in verschiedenen Teilungsstadien sich befinden. Die herangewachsenen Kerne, welche so eine verschieden große Anzahl verschieden großer Caryosome enthalten (Taf. X Fig. 58 p und q), lösen die Kernmembran auf und ihre Chromatinkörnchen sowohl wie die Caryosome gelangen dadurch frei ins Plasma. Hier beginnen die Caryosome die soeben geschilderte Entwicklung von neuem; die bei diesem Prozeß aus dem Kerne regellos verteilt ins Plasma gelangten Chromatinkörnchen bezeichne ich als vegetative Chromidien. Jedes der stark chromatischen Caryosome — ich kann dieselben statt des vorhergebrauchten indifferenten Ausdruckes „Binnenkörper“ jetzt als Caryosome bezeichnen, da sie sich durch ihre Entstehung als solche erwiesen haben — lockert sich auf und bildet sich wieder zu einem Kerne aus (Taf. X Fig. 58 a—q). Diese Kerne werden durch die Plasmaströmung im Plasma von Basis und Stiel unregelmäßig verteilt. Sie zerfallen immer wieder von neuem simultan (Taf. X Fig. 55) und die frei gewordenen Caryosome wachsen wieder zu Kernen heran, bis das ganze Tier von einer großen Anzahl bläschenförmiger Kerne und deren verschiedenen Entwicklungsstadien erfüllt ist (Taf. X Fig. 56 a). Jeder dieser Kerne umgibt sich schließlich mit einer Plasmaportion. Diese Teilstücke sind amöboid beweglich und kriechen aus der Hülle des Muttertieres heraus. In seltenen Fällen beobachtete ich, daß das ganze Plasma des *Wagnerella*-Körpers zusammenhängend aus seiner Hülle ausfloß; es zerfällt das Plasma dann außerhalb der Skelethülle des Muttertieres in eine so große Anzahl von Plasmaportionen als Kerne vorhanden sind. Es bleibt ein Restkörper übrig, welcher das bei den geschilderten Kernvorgängen unbeteiligt gebliebene Centralkorn enthält und welcher zugrunde geht. Die nackten, amöboid beweglichen Teilstücke bewegen sich vorwärts und beginnen nach kurzer Zeit die halbmondförmigen Nadeln auszuscheiden. Leider konnte ich die Tiere nicht so weit züchten, bis sie sich festsetzten und zu fertigen Tieren auswuchsen. Deshalb mußte die wichtige Frage, ob aus der simultanen Schizogonie Individuen her-

vorgehen, welche der dünnen oder dicken Generation angehören, ungelöst bleiben.

Der Zerfall erfolgt simultan. Die Vorbereitung dazu ist die oben beschriebene Kernvermehrung; diese nimmt eine sehr lange Zeit, die längste Zeit des vegetativen Lebens der Tiere der dicken Generation in Anspruch und läßt sich im Leben sehr gut verfolgen. Von allen beobachteten Tieren der dicken Generation fand ich, wie vorher angeführt, 3 in Teilung, etwa 20 einkernige, die übrigen ca. 125 Exemplare waren in Vielkernbildung begriffen. Lebend konnte ich den Zerfall des Hauptkernes 3 mal verfolgen, die späteren, häufigen Stadien der Vielkernbildung natürlich erheblich öfter.

Die Ähnlichkeit dieser Zerfallsteilung des Kerns mit der von *Calcituba* (SCHAUDINN 1896) ist ungemein groß, wie ja überhaupt immer wieder bei der *Wagnerella*-Entwicklung viele Beziehungen zu den Foraminiferen hinweisen. Ich habe leider keine Gelegenheit gehabt, *Calcituba* untersuchen zu können, zweifle aber nicht daran, daß es durch färberische Differenzierungen wohl gelingen würde, feinere Details in den Chromatinbrocken bei der Zerfallsteilung zu erkennen, und daß sich jene Chromatinbrocken dann auch als Caryosome erweisen werden (SIEDLECKI 1901).

VII. Plastogamie.

Häufig stehen Wagnerellen in kleinen Gruppen von 4 oder 5 Individuen beisammen. Sind sie unter guten Lebensbedingungen, so daß sie große Köpfe bilden und lange Pseudopodien ausgesandt haben, so verbinden sich häufig 2 Tiere für kürzere oder längere Zeit plastogamisch miteinander. Ihre Pseudopodien verschmelzen miteinander. Zwischen den beiden Tieren werden nach und nach die Pseudopodien immer kürzer, so daß allmählich die Köpfe einander berühren (Textfig. 17) und die Stiele sich etwas biegen (Textfig. 18 p. 190). In beiden Köpfen wölbt sich häufig in der einander zugekehrten Seite eine Plasmapartie vor. Das Centralkorn rückt aus seiner centralen Lage auch nach der Seite zu, an der sich die Tiere berühren (Taf. VI Fig. 9), oft bis in die Plasmavorwölbung hinein. Reizt man die Tiere durch vorsichtiges Berühren, so beginnt das Plasma in beiden Tieren basalwärts in den Stiel zu fließen; nach kurzer Zeit trennen sich die Tiere und jedes zieht sich in seinen Stiel zurück.

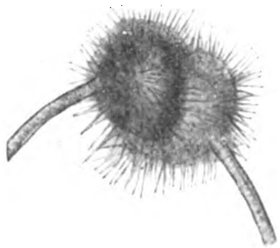


Fig. 17. Nach dem Leben.
2 Köpfe im Beginn der
Plastogamie.

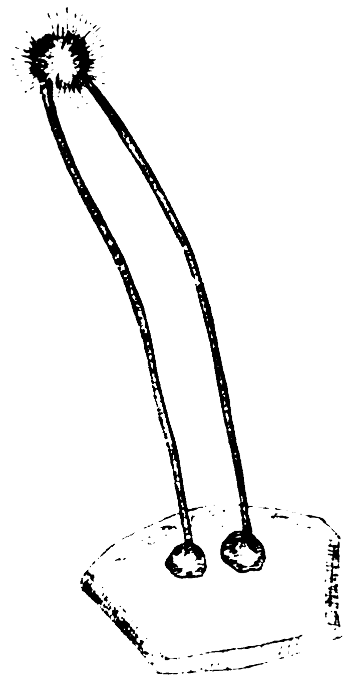


Fig. 18.
Plastogamie nach dem Leben.
Obj. A, Oc. 1.

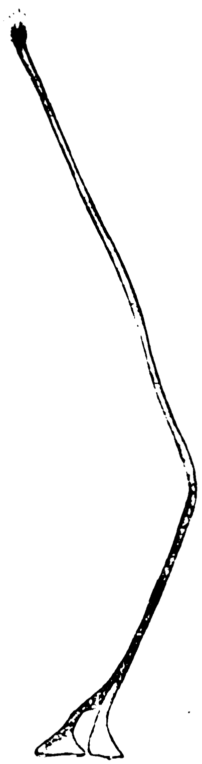


Fig. 19a.
Wagnerella mit doppelter Basis.
Nach dem Leben. Obj. A, Oc. 1.

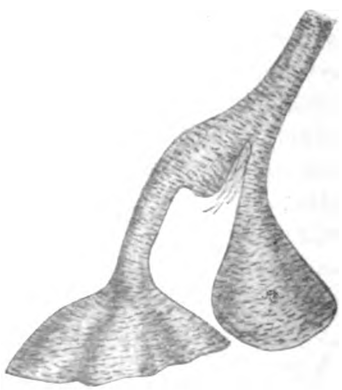


Fig. 19b.
Basaler Teil stärker vergrößert.

Komplizierter werden die Verhältnisse der Plastogamie, wenn sich nicht zwei normale Individuen miteinander verbinden, sondern Wagnerellen, welche eine Anzahl Knospen abgeschnürt haben oder solche, von denen das eine in Knospung, das andere in Teilung sich befindet. Ich glaubte, besonders im Anfang dieser Untersuchung, als ich Wagnerellen in Knospenbildung plastogamisch verbunden fand, lange Zeit, daß es sich hierbei nicht um rein vegetative Vorgänge, sondern um gamogene Erscheinungen handele. Ich konnte mich aber überzeugen, daß die Tiere sich rein vegetativ auf den verschiedensten Stadien ihrer Entwicklung plastogamisch miteinander verbinden können. Ich möchte das hier besonders betonen.[1])

VIII. Mißbildungen.

Mißbildungen konnte ich bei *Wagnerella* selten beobachten. Ich fand dreimal die gleiche bei Tieren der dünnen Generation, ohne leider zu wissen, wie dieselbe entsteht. Es sind dies Tiere mit einer doppelten Basis (Textfig. 19a u. b). Die eine Basis war leer, die andere von Plasma erfüllte enthielt den Kern; der Bau des Weichkörpers war sonst wie der gleiche bei normalen Tieren.

IX. Absterbeerscheinungen.

Wagnerella hält sich nicht lange in der Gefangenschaft. Beim Absterben zerfällt das Plasma kugelig. Es waren die ersten Anzeichen des Absterbens, wenn bei Lebendfärbung mit Methylenblau sich das Centralkorn und dann auch der Kern färbten. Bei lebensfrischen Exemplaren war dies nie der Fall. Ferner ging häufig bei absterbenden Tieren die Strahlung der Sphäre direkt ins umgebende Plasma über, wobei die Membran derselben aufgelöst

[1]) Beim Studium von *Difflugia urceolata* C. (1904) fand ich plastogamisch verbundene Individuen, besonders im Herbst häufig in meinen Kulturen, und ich glaubte dies möglicherweise als Geschlechtsvorgänge deuten zu können. Ich betonte zwar auch damals bereits, daß ich nur die Möglichkeit in Erwägung ziehe, daß ich aber irgendwelche tatsächlichen Befunde nicht besaß. Da diese Möglichkeit nun aber von verschiedenen Seiten wiederholt betont wurde und ich mittlerweile echte Geschlechtsvorgänge bei *Difflugia* beobachten konnte — dieselben finden bei den aus den Cysten ausschlüpfenden Gameten statt —, möchte ich dieses gern hier berichtigen. Ich werde anderenorts jene Vorgänge näher beschreiben.

wurde. Die Strahlung im Plasma war dann sehr deutlich. Auf Präparaten solcher Tiere ließ sich die radiärgestreifte Sphäre nicht mehr nachweisen und die Strahlung war bis an die centrale stark gefärbte Partie des Centralkorns zu verfolgen. Beim Absterben erfolgt der kuglige Zerfall des Plasmas stets zuerst in der Kopfregion und dringt allmählich in die tieferen plasmatischen Stielpartien vor.

X. Regenerationsversuche.

Wie auf p. 173 ausgeführt wurde, findet bei der Knospenbildung gar nicht selten eine Ablösung des ganzen Kopfes (Textfig. 16) mitsamt dem Centralkorn statt. Es ist dies kein pathologischer, sondern ein normaler physiologischer Vorgang. Er geht ohne Schaden für das Tier häufig vor sich. Das Centralkorn wird dann, wie ich bereits anführte, wieder neu gebildet. Sowohl bei normalen dünnen, nicht knospenden Individuen, als auch bei plastogamisch verbundenen Tieren konnte ich mehrfach beobachten, daß bei Exemplaren, welche große Köpfe mit reichlichen Pseudopodien ausgebildet hatten, sich die Köpfe gelegentlich loslösen. Dieselben flottieren eine Zeitlang im Wasser umher; dabei zeigen die Pseudopodien dieser abgerissenen Köpfe, bei welchen central das Centralkorn liegt, sehr lebhafte Körnchenströmung. Diese abgerissenen Köpfe gehen nach einiger Zeit zugrunde (p. 173); das Tier dagegen ist imstande, einen neuen, ein Centralkorn enthaltenden Kopf auszubilden.[1]) Ich wollte zu ermitteln versuchen, wie dieser Vorgang sich abspielt und wie die Neubildung des Centralkorns vor sich geht. Nach den Befunden bei der Knospung und der Schizogonie vermutete ich, daß das Centralkorn vom Hauptkerne her neu gebildet werden müsse.

Ich schnitt 18 Wagnerellen den Kopf ab und wählte hierfür Tiere, welche einen wohlausgebildeten Kopf und reichliche Pseudopodien zeigten. Die 18 Köpfe wurden untersucht und in allen 18 das Centralkorn gefunden. Von diesen 18 Tieren starben 6 während der ersten 2 Stunden nach der Operation, auch von den übrigen gingen im Laufe der nächsten 12 Stunden in der vorher beschriebenen Weise noch 9 zugrunde. Bei den übriggebliebenen 3 war nach 12 Stunden der Kopf gut ausgebildet. Bei näherer Untersuchung

[1]) Diese Erscheinung erinnert an die Vorgänge der Autotomie, welche mehrfach bei den Hydroyden, z. B. *Tubularia, Pennaria, Campanula* u. a. beschrieben worden sind.

zeigten die neuen Köpfe wieder ein gut ausgebildetes Centralkorn. Bei 2 Tieren war eine radiär gestreifte Sphäre ausgebildet; das andere zeigte nur einen chromatinreichen Centralkörper, bis an welchen heran sich die Achsenfäden der Pseudopodien verfolgen ließen. Das Kopfskelet wurde aus den im Stielplasma vorhandenen Nadeln in allen Fällen neu gebildet. Diese ersten Versuche wurden im Frühjahr 1906 durch die Vesuveruption gestört. Nach der Eruption konnte ich die Tiere später des verdorbenen Wassers wegen nicht wieder züchten. So ist leider die cytologische Seite der Frage ungelöst geblieben.

Bei verschiedenen Polycladeneiern (*Thysanozoon* SCHOKAERT 1901, *Prostecerius* GÉRARD 1901) ist bekannt, daß nach Zugrundegehen des alten Centrosoms vom Eikern her die Substanz geliefert wird, welche das Material für die Erzeugung des neuen Centrosoms bildet. BOVERI (1900) bezeichnet die Neubildung von Centrosomen, — er nimmt aus theoretischen Gründen ein latentes Cytocentrum im Kerne an — als „Reparation“ des Centrosoms im Sinne DRIESCH's, nicht als eigentliche Neubildung. Allerdings muß ich hier zufügen, daß die Beobachtungen von WILSON (1901) und YATSU (1905) beweisen, daß eine Entstehung von Centrosomen de novo im Explasma sicher möglich ist.

Es gelingt nicht immer, wie p. 161 gezeigt wurde, im Hauptkern von *Wagnerella* ein Caryosom morphologisch differenziert zu erkennen, jedoch lassen bestimmte Stadien (Taf. VI Fig. 8f) gut ausgebildete Caryosome in den Binnenkörpern erkennen. Bei den Knospungsvorgängen wurde ferner gezeigt, daß das Centralkorn aus dem Kern stammt. Nach diesen Befunden einerseits, andererseits aus denen der Entwicklung des Caryosoms bei der Schizogonie der dicken Generation (p. 186) ist es wohl anzunehmen, daß im *Wagnerella*-Hauptkern eine Kontinuität des kinetischen Kernmaterials bestehen muß.

Die Caryosomenbefunde im Hauptkern der *Wagnerella* lassen es zum mindesten für sehr wahrscheinlich halten, daß es sich demnach bei dem Wiederersatz des Centralkorns um eine Reparation vom omnipotenten Hauptkern her handelt.

Ich füge diese sehr fragmentarischen Beobachtungen nur deshalb hier an, weil ich keine Gelegenheit habe, sie zu vervollständigen. Die Süßwasserheliozoen eignen sich nicht für derartige experimentelle Untersuchungen, weil bei diesen Centralkorn und Kern auf einem zu engen Raum beieinander liegen oder ein gesondertes Centralkorn überhaupt nicht vorhanden ist.

XI. Systematische Stellung von *Wagnerella borealis*.

Der erste Beobachter von *Wagnerella*, Mereschkowsky (1878) stellte das Tier, wie bereits p. 136 angeführt wurde, zu den Kalkschwämmen. P. Mayer (1879, 1881), welcher die Pseudopodienbildung des Tieres beobachtete und die kieslige Beschaffenheit der Skeletnadeln erkannte, stellte das Tier zu den „skeletophoren“ Heliozoen. Bütschli (1880/82) nahm nach Mayer's Schilderung als unzweifelhaft an, daß die beiden verschiedenen Arten der Skeletnadeln, sowohl die „kleineren, kurzen, bogenartig gekrümmten Nadeln, die der Körperoberfläche tangential dicht aufliegen und in eine organische Hüllhaut eingelagert sein sollen und weiterhin lange, sehr feine und beiderseits zugespitzte, gerade bis unregelmäßig wellig gekrümmte Nadeln, die radial von der Körperoberfläche sich erheben und nur mit ihren proximellen Enden in die organische Hüllhaut eingepflanzt sind“, vom Tiere selbst ausgeschieden werden. Deshalb stellte er das Tier ebenso wie Schaudinn (1896) zur Ordnung der *Chalarothoraca* Genus *Wagnerella*. Wie auf p. 145 geschildert wurde, hat sich diese Annahme bestätigt. *Wagnerella* scheidet ihre isolierten kiesligen Skeletelemente im Protoplasma aus, gehört demnach zu den *Chalarothoraca*.

Unsere geringen Kenntnisse der Heliozoenentwicklung stehen zunächst noch einem weiteren Ausbau der Heliozoensystematik im Wege. — Jedenfalls aber zeigt sowohl der Bau des Weichkörpers, die Lage vom Kern und Centralkorn als auch die Entwicklung von *Wagnerella* die nahe Verwandtschaft dieser Form mit *Rhaphidiophrys* und *Acanthocystis*.

Die Teilung bei *Wagnerella* verläuft sehr ähnlich wie die von *Rhaphidiophrys* und *Acanthocystis* (Schaudinn 1896), doch dürfte die Kernteilung bei *Wagnerella*, das Isoliertbleiben von Kern und Centralkorn während der Mitose, einen primitiveren Zustand als bei jenen beiden Formen darstellen.

Auch bei den Knospungsvorgängen wird die nahe Verwandtschaft von *Acanthocystis* und *Rhaphidiophrys* mit *Wagnerella* augenfällig; besonders charakterisiert ist dieselbe durch die kernendogene Bildung des Centralkorns.

Die Stielbildung bei der festsitzenden *Wagnerella* kommt durch eine Verlängerung des ursprünglich wohl frei beweglichen, rhaphidiophrysartigen Tierkörpers zustande, wie dies in der *Wagnerella*-Ontogonie bei der Teilung zu beobachten ist. Der Stiel wird im Gegensatz zu allen übrigen festsitzenden Heliozoen vom Tierkörper

selbst gebildet und ist nicht wie z. B. bei *Clathrulina* oder *Actinolophus* ein Ausscheidungsprodukt desselben. Durch diese Verlängerung verliert der *Wagnerella*-Körper die typische, runde Heliozoengestalt. Das ursprünglich wohl ebenso wie bei *Acanthocystis* und *Rhaphidiophrys* central liegende Centralkorn, in welchem die Achsenfänden sich vereinigen, sowie der Zellkern werden dadurch in ihrer Lage zu einander verschoben.

Gamogonie ist bei den *Chalarothoraca* bisher überhaupt nicht bekannt, doch vermute ich, daß die Geschlechtsvorgänge bei den Süßwasser-*Chalarothoraca* wohl ähnlich wie bei anderen Süßwasser-Heliozoen sich innerhalb einer Cyste abspielen; da aber ein Vergleich mit den anderen Formen vorläufig fehlt, ist die Sporenbildung bei *Wagnerella*, welche ich für Gamogonie halte, für die Systematik zunächst nicht zu verwerten. Das Fehlen von Cystenbildungen bei *Wagnerella*, ebenso wie das der pulsierenden Vacuolen ist wohl, ähnlich wie bei Foraminiferen, durch deren marine Lebensweise zu erklären (ZUELZER 1907).

Die Erscheinung des Dimorphismus, welche bei den Foraminiferen nicht selten auftritt, ist bisher bei Heliozoen nicht bekannt; auch sie ist deshalb für die systematische Stellung der *Wagnerella* zunächst nicht zu verwerten.

Die vorstehenden Untersuchungen wurden während meines zweimaligen Aufenthalts im Frühjahr 1905 und 1906 an der zoologischen Station zu Neapel ausgeführt.

Ich spreche allen Herren, welche mit der Leitung und Verwaltung dieses Institutes betraut sind, für ihr immer großes Entgegenkommen meinen herzlichsten Dank aus. — Einen Teil des konservierten Materials habe ich im zoologischen Institute der Universität Berlin bearbeitet. Ich möchte nicht versäumen, dem Leiter dieses Institutes Herrn Geh.-Rat F. E. SCHULZE für die gütige Überlassung eines Arbeitsplatzes meinen verbindlichsten Dank zu sagen.

Berlin, Januar 1909.

Literaturverzeichnis.

1898 VAN BEMMELEN, J. M.: 3. Abh. A. Die Hohlräume, die bei der Entwässerung des Hydrogels von SiO_2 entstehen. Journ. f. prakt. Chemie Bd. 18.

1900 BORGERT, A.: Untersuchungen über die Fortpflanzung der tripyleen Radiolarien, speziell von Aulacantha scolymantha H. I. Teil. Zool. Jahrb. Bd. 14 H 2.

1900 Boveri, Th.: Zellenstudien. Über die Natur der Centrosomen. Verh. physik. med. Ges. Würzburg.

1901 —: Zellenstudien. IV. Über die Natur der Centrosomen.

1880—89 Bütschli, O.: Protozoa. Bronn's Klassen u. Ordn. des Tierreichs. Bd. I Abt. 3.

1889 —: Über die sogenannten Zentralkörper der Zelle und ihre Bedeutung. Verh. d. naturhist. med. Ver. in Heidelberg.

1892 —: Untersuchungen über mikroskopische Schäume und das Protoplasma. Leipzig (Engelmann).

1896 —: Über den Bau quellbarer Körper und die Bedingungen der Quellung. Abh. d. k. Ges. d. Wiss. zu Göttingen Bd. 4.

1900 —: Untersuchungen über die Mikrostruktur künstlicher und natürlicher Kieselsäuregallerten. Verh. d. nat.-hist. Ver. Heidelberg.

1907 Elpatiewsky, W.: Zur Fortpflanzung von Arcella vulgaris. Arch. f. Protistenk. Bd. 10.

1896 Erlanger, A.: Über die Befruchtung und ersten Teilungen von Ascaris megalocephala. Verh. d. deutsch. zool. Ges. 1896.

1901 Gérard: L'ovocyte de premier ordre de Prostleceraeus vitatus. in: La Cellule XX.

1904 Gurwitsch: Morphologie und Biologie der Zelle. Jena.

1905 Haecker, V.: Über die biologische Bedeutung der feineren Strukturen des Radiolarienskelettes. Jen. Zeitschr. f. Naturw. Bd. 39.

1903 Hamburger, Clara: Beiträge zur Kenntnis von Trachelius ovum. Arch. f. Protistenk. Bd. 2.

1906 Herera, A. L.: Notions générales de Biologie et de Plasmogénie comparés. Berlin (Junk).

1902 Hartmann, Max: Studien am tierischen Ei. Zool. Jahrb. Bd. 15.

1904 —: Fortpflanzungsweisen der Organismen. Biol. Zentralbl. Bd. 24.

1908 —: Eine neue Dysenterieamöbe Entamoeba tetragena (Viereck) syn. Entamoeba africana (Hartmann). Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. Bd. 12 1908 Beiheft 5.

1907 Hartmann, M. u. Prowazek, S.: Blepharoplast, Caryosom und Centrosom. Arch. f. Protistenk. Bd. 10.

1877 Hertwig, R.: Studien über Rhizopoden. Jen. Zeitschr. f. Naturw. Bd. 10 (Suppl.) u. Bd. 11.

1898 —: Über Kernteilung, Richtungskörperbildung und Befruchtung von Actinosphaerium eichhorni. Abh. bayr. Akad. Wiss. Bd. 19.

1873—74 Hertwig, R. u. Lesser, E.: Über Rhizopoden und denselben nahestehende Organismen. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 10 u. 11.

1906 Keysselitz, G.: Generations- und Wirtswechsel von Trypanoplasma borreli Laveran u. Mesnil. Arch. f. Protistenk. Bd. 7.

1908 —: Die Entwicklung von Myxobolus pfeifferi. Arch. f. Protistenk. Bd. 11.

1908 —: Studien über Protozoen. Arch. f. Protistenk. Bd. 11.

1902 Kölsch, K.: Untersuchungen über die Zerfließungserscheinungen der ciliaten Infusorien. Zool. Jahrb., Abt. f. Anat. u. Ontog. Bd. 16 Heft 2.

1895 Lauterborn, R.: Protozoenstudien. I. Kern- und Zellteilung von Ceratium hirundinella O. F. M. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 59.

1896 —: Untersuchungen über Bau, Kernteilung und Bewegung der Diatomeen. Leipzig (Engelmann).

1907 LÉGER, L.: Les Schizogrégarines des Trachéates. I. Le genre Ophryocystis. Arch. f. Protistenk. Bd. 8.
1906 LO BIANCO: Azione della pioggia, caduta durante l'eruzione del Vesuvio dell' Aprile 1906 sugli animali marini. Mitt. zool. Stat. Neapel Bd. 18.
1901 LOTTERMOSER, A.: Über anorganische Kolloide. Stuttgart 1901.
1879 MAYER, P.: Wagnerella borealis. Zool. Anz. Bd. 2.
1881 —: Noch einmal Wagnerella borealis. Zool. Anz. Bd. 4.
1878 MERESCHKOWSKY, C.: Etudes sur les éponges de la mer blanche. Mém. Acad. imp. Petersb. sér. 7 T. 26.
1880 —: Studien über die Protozoen des nördlichen Rußlands. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 16.
1907 MÜLLER, A.: Allgemeine Chemie der Kolloide. Leipzig 1907.
1904 PENARD, EUGÈNE: Les Héliozoaires d'eau douce. Genève.
1908 POLL, H.: Mischlingsstudien. III. System und Kreuzung. Sitz.-Ber. d. Ges. naturf. Freunde zu Berlin Nr. 6.
1898 PROWAZEK, S.: Vitalfärbungen mit Neutralrot an Protozoen. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 63.
1904 —: Die Entwicklung von Herpetomonas. Arb. a. d. kais. Gesundheitsamt Bd. 20.
1890 RHUMBLER, L.: Über Entstehung und Bedeutung der in den Kernen vieler Protozoen und in den Keimblättchen von Metazoen vorkommenden Binnenkörper (Nucleolen). Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 56.
1893 SASSAKI, C.: Eine neue marine Heliozoe. Jen. Zeitschr. Bd. 28 Heft 1.
1894 SCHAUDINN, F.: Camptonema nutans, ein neuer mariner Rhizopod. Monatsber. d. k. preuß. Akad. d. Wiss. Heft 10.
1895 —: Untersuchungen an Foraminiferen. I. Calcituba polymorpha ROBOZ. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 59.
1895 —: Über die Teilung der Amoeba binucleata GRUBER. Sitz.-Ber. d. Ges. naturf. Freunde zu Berlin.
1896 —: Über das Centralkorn der Heliozoen, ein Beitrag zur Centrosomenfrage. Verh. deutsch. zool. Ges. Bd. 6.
1896 —: Über die Copulation von Actinophrys sol. Sitz.-Ber. d. k. preuß. Akad. d. Wiss., 1 Halbbd.
1896 —: Das Tierreich. Heliozoa. Herausgeg. Deutsch. zool. Ges. Berlin (Friedländer).
1899—1900 —: Untersuchungen über den Generationswechsel von Trichosphaerium sieboldi SCHM. Abh. d. k. preuß. Akad. d. Wiss. Berlin. Anhang.
1904 —: Generations- und Wirtswechsel bei Trypanosoma und Spirochäte. Arb. a. d. kais. Gesundheitsamt Bd. 20 Heft 3.
1893 SCHEWIAKOFF, W.: Natur der sogenannten Exkretkörner bei Infusorien. Zeitschrift f. wiss. Zool. 57 Bd. 1.
1901 SCHOCKAERT: L'Ovogenèse chez le Thysanozoon brocchi. in: La Cellule XX.
1874 SCHULZE, F. E.: Rhizopodenstudien. II. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 10.
1863 SCHULZE, MAX: Das Protoplasma der Rhizopoden und der Pflanzenzellen. Leipzig.
1905 SIEDLECKI, M.: Über die Bedeutung des Caryosoms. Bull. Ac. Sc. Krakau Oktobre 1905.
1908 SWARCZEWSKY, B.: Über die Fortpflanzungserscheinungen bei Arcella vulgaris. Arch. f. Protistenk. Bd. 12 Heft 3.
1905 THON CAREL: Über den feineren Bau von Didinium nasutum O. F. M. Arch. f. Protistenk. Bd. 5.

1905 Vahlkampf, E.: Beiträge zur Biologie und Entwicklungsgeschichte von Amoeba limax einschließlich der Züchtung auf künstlichem Nährboden. Arch. f. Protistenk. Bd. 5.

1903 Vejdowsky u. Mrázek: Veränderungen im Cytoplasma während der Reifung und Befruchtung der Rynchelmis-Eier. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 62.

1901 Wilson: Experimental studies in cytology. Arch. f. Entw. Mech. Bd. 13.

1907 Winter, F. W.: Zur Kenntnis der Thalamophoren. I. Untersuchung über Peneroplis pertusus. Arch. f. Protistenk. Bd. 10.

1905 Yatsu: The formation of Centrosoms in enucleated eggfragments. Journ. of exp. Zool. Vol. 2.

1904 Zuelzer, Margarete: Beiträge zur Kenntnis der Difflugia urceolata Carter. Arch. f. Protistenk. Bd. 4.

1907 —: Über den Einfluß des Meerwassers auf die pulsierende Vacuole. Sitz.-Ber. d. Ges. naturf. Freunde Nr. 4.

1908 —: Bau und Entwicklung von Wagnerella borealis. (Vorl. Mitteil.) Sitz.-Ber. d. Ges. naturf. Freunde Nr. 7.

Tafelerklärung.

Die Figuren sind mit dem Zeiss'schen Stativ 1a, Zeiss'schen Systemen und dem großen Abbé'schen Zeichenapparat hergestellt. Die Vergrößerungen sind jedesmal angegeben. Die Präparate wurden entkieselt; es fehlen deshalb die Nadeln auf den Zeichnungen. Die schwarze Linie bezeichnet die organische Grundsubstanz des Stieles.

Tafel VI.

Fig. 1. *Wagnerella borealis.* Toto Übersichtsbild; Carmalaun Obj. A, Oc. 3. a) Tier mit vollständig ausgebildetem Kopf. Centralkorn liegt central im Kopf. b) Kopf mit Centralkorn im Beginn in den Stiel zurückzufließen. c) Kopf mit Centralkorn fast ganz zurückgeflossen. Protoplasmastruktur.

Fig. 2. Stielpartie nach dem Leben. Imm. 2 mm, Comp. Oc. 12. Optischer Längsschnitt a) von einem Tier, dessen Kopf gut ausgebildet lebhafte Pseudopodienströmung zeigte; breiter hyaliner Grenzraum. b) Plasmapartie desselben Tieres, dessen Plasma aus dem Kopf in den Stiel zurückfloß; auch die Randpartie deutlich wabig.

Fig. 3. Kopf und obere Stielpartie. Eisenhämatoxylin nach Heidenhain. Imm. 2 mm, Comp. Oc. 8. Centralkorn; Pseudopodien mit Achsenfaden; Strahlung im Stiel.

Fig. 4. Teil eines Querschnittes durch den Kopf. Eisenhämatoxylin. Imm. 2 mm, Comp. Oc. 18. Achsenfäden; Pseudopodien.

Fig. 5. Centralkorn nach dem Leben. Optischer Querschnitt. Imm. 2 mm, Comp. Oc. 8. a) Centralkorn eines Tieres mit wohl ausgebildetem Kopfe, ausgestreckten Pseudopodien und deutlicher Plasmastrahlung, welche sich von den Pseudopodien bis an das Centralkorn verfolgen ließ. b) Tier ohne Pseudopodien mit fast vollständig zurückgezogenem Kopf.

Fig. 6. Centralkorn nach Präparaten. Hämalaun-Carmalaun. Imm. 2 mm, Comp. Oc. 8. 6a—o optischer Querschnitt. a) Tier, dessen Kopf und Pseudopodien gut ausgebildet sind. Plasmastrahlung, Achsenfäden. b) Centralkorn aus einem Kopf,

dessen Pseudopodien ganz zurückgezogen sind; Kopfplasma beginnt in den Stiel zu fließen. c) Centralkorn aus gut ausgebildetem Kopf; Pseudopodien; Plasmastrahlung. Strahlung auch im Stiel schwach vorhanden. d—f) Centralkorn aus Tieren, deren Kopf Pseudopodien ausgebildet hatte und welche eine deutliche Plasmastrahlung vom Kopf in den Stiel hinein aufwiesen. g) Centralkorn aus dem Kopf eines Tieres, dessen Pseudopodien nicht ausgestreckt waren. Strahlung nur nach dem Stiel zu vorhanden. h) Centralkorn aus gut ausgebildetem Kopf; Strahlung im Stiel schwach vorhanden; Centralkorn nach dem Stiel zu verlängert. i) Centralkorn exzentrisch im Kopfe liegend. k) Centralkorn aus einem Kopf, welcher Pseudopodien nicht ausgebildet hatte; Plasmastrahlung nicht vorhanden. l) Centralkorn aus einem Kopf; Strahlung nur nach dem Stiel zu ausgebildet; Pseudopodien vollständig rückgebildet. m) Centralkorn aus einem Kopf, dessen Pseudopodien sehr schwach ausgebildet waren; Plasmastrahlung sehr gering. Chromatin des Innenkörpers stark aufgelockert. n) Centralkorn aus einem Kopf; weder Pseudopodien noch Plasmastrahlung vorhanden; Chromatin des Innenkörpers kompakter. o) Centralkorn aus einem gut ausgebildeten Kopf, welcher Pseudopodien ausgesandt hatte. Chromatin des Innenkörpers stark aufgelockert. p) Centralkorn von der Oberfläche gesehen mit den peripheren Chromatinkörnern.

Fig. 7. Stück eines Längsschnittes eines Kopfes. Carmalaun. Imm. 2 mm, Comp. Oc. 8. Centralkorn mit Centriol und Strahlung; Sphäre nicht ausgebildet.

Fig. 8. Ruhender Kern aus der Basis. Carmalaun. Imm. 2 mm, Comp. Oc. 8. a) Binnenkörper klumpig, unregelmäßig vacuolisiert. b) Binnenkörper unregelmäßig vacuolisiert, zum Teil zusammengeflossen. c) Vacuolisation der Binnenkörper etwas regelmäßiger. d) Binnenkörper durch zunehmende Vacuolisation aufgelockert. e) Binnenkörper noch weiter aufgelockert. f) Binnenkörper kernartig; in jedem ein Nucleocentrosom (Caryosom) erkennbar.

Fig. 9. Obere Partie zweier Tiere, deren Köpfe plastogamisch verbunden sind. Carmalaun. Obj. DD, Comp. Oc. 4.

Tafel VII. Knospung.

Fig. 10. Gesamtbild; eine fertige Knospe im Kopf abgeschnürt. Obj. A, Oc. 3. Hämalaun.

Fig. 11. Gesamtbild; 4 fertige Knospen im Kopfe abgeschnürt; ein Knospenkern im Kopf. Obj. A, Oc. 3. Hämalaun.

Fig. 12. Kopf mit 5 Knospen, von denen eine bereits aus dem Kopf ausgetreten ist. Obj. A, Oc. 3. Carmalaun.

Fig. 13. Kopf mit 5 Knospenkernen und dem Reste des Hauptkernes in Knospenkernbildung. Central das unveränderte Centralkorn. Obj. A, Oc. 3. Alauncarmin.

Fig. 14. Gesamtbild; die leere Basis ist fortgelassen. Hauptkern im Kopf. Centralkorn exzentrisch; kurz vor Zerfall des Hauptkerns in 7 Knospenkerne. Obj. 3. Oc. 3. Alauncarmin.

Fig. 15a. Basis mit Hauptkern und 5 von demselben abgeschnürten Knospenkernen. Imm. 2 mm, Oc 1. Carmalaun.

Fig. 15b. Schnitt durch eine stärker vergrößerte, in der Basis liegende junge Kernknospe mit centralem Nucleocentrosom. Imm. 2 mm, Comp. Oc. 12. Hämalaun.

Fig. 16. Kopf mit 2 fertig ausgebildeten Knospen. Central im Kopf das mütterliche Centralkorn. Totopräparat. Imm. 2 mm, Comp. Oc. 1. Carmalaun.

Fig. 17. Fertige Knospe aus dem Kopf mit Nucleocentrosoma-Schnitt. Imm. 2 mm, Comp. Oc. 12. Carmalaun.

Fig. 18—25. Teilungsstadien von Knospen aus dem Kopfe des Muttertieres. Imm. 2 mm, Comp. Oc. 12. Schnitte.

Fig. 18. Beginn der Teilung, das Nucleocentrosom hantelförmig eingeschnürt. Eisenhämatoxylin.

Fig. 19. Nucleocentrosom fertig geteilt; Knäuelstadium. Eisenhämatoxylin.

Fig. 20. Teil eines Schnittes durch den Kopf, in welchem eine Knospe im Beginn der Mitose sich befand. Centralkorn des Muttertieres im Kopfe oberhalb der Knospe getroffen. Eisenhämatoxylin.

Fig. 21. Späteres Stadium der Mitose des Knospenkernes; Äquatorialplatte; Centrosomen. Eisenhämatoxylin.

Fig. 22. Chromosomen sind gespalten; beginnendes Auseinanderweichen der Tochterplatten. Eisenhämatoxylin.

Fig. 23. Schnitt durch eine Knospe; Kern geteilt. Die beiden Tochterknospenkerne hängen noch durch eine Chromatinbrücke zusammen. Die beiden Nucleocentrosomen bereits wieder central. Plasmastrahlung. Carmalaun.

Fig. 24. Peripherer Teil eines Schnittes durch einen Kopf mit Knospen. Ruhestadium des Knospenkernes; noch schwache knäuelartige Anordnung des Chromatins. Die Knospe liegt am Rande des Mutterkopfes kurz vor dem Austritt aus demselben. Hämalaun.

Fig. 25. Ruhestadium des Knospenkernes. Totopräparat. Imm. 2 mm, Comp. Oc. 12. Carmalaun.

Fig. 26. Schnitt durch einen Kopf, welcher eine Knospe mit ruhendem Kern und eine Knospe mit fast fertig geteiltem Knospenkern enthält. Beginnende Zellteilung dieser Knospe mit leichter Einschnürung des Plasmas. Centralkorn des Muttertieres etwas exzentrisch. Imm. 2 mm, Oc. 1. Eisenhämatoxylin.

Fig. 27. Kopf einer *Wagnerella*, welcher das gesamte Körperplasma des Tieres enthält. Der Hauptkern hat sich restlos im Kopfe in Knospenkerne aufgeteilt. Centralkorn central. Der Kopf enthält noch 2 fertige Knospen. Imm. 2 mm, Oc. 1. Hämalaun.

Fig. 28. Ebenso wie Fig. 27; 4 Knospen im Kopf. Centralkorn exzentrisch. Imm. 2 mm, Oc. 1. Hämalaun.

Fig. 29. Ebenso wie Fig. 27; im Kopf 7 Knospen. Centralkorn exzentrisch. Imm. 2 mm, Oc. 1. Hämalaun.

Tafel VIII. Teilung.

Fig. 30a—i. Übersichtsbilder der aufeinanderfolgenden Stadien der Teilung nach dem Leben gezeichnet. Obj. A, Oc. 3.

Fig. 31. Geteilter Kopf nach dem Leben gezeichnet, stärker vergrößert; Nadeln fortgelassen; zeigt die unregelmäßige Größe einzelner noch nicht fertig geteilter Teilstücke.

Fig. 32. Kern bei seiner Wanderung nach dem Kopf in Vorbereitung zur Teilung. Imm. 2 mm, Oc. 4. Carmalaun. a) Eintritt in den Stiel; b) im Stiel.

Fig. 33. Ungeteilter Kern central im Kopf überdeckt das Centralkorn; Vorbereitung zur Teilung. Imm. 2 mm, Oc. 1. Carmalaun.

Fig. 34. Tier in Teilung, Kopf enthält 3 Kerne, 3 Centralkörner. Carmalaun. a) Obj. A, Oc. 3. Gesamtbild. Alles Plasma im Kopf. Stiel und Basis leer. b) Der-

selbe Kopf stärker vergrößert. Imm. 2 mm, Oc. 1. 3 Kerne, 3 Centralkörner. Beginnende unvollständige Zellteilung.

Fig. 35. Kopf in Teilung, 8 kernig. 10 Centralkörner. Zwei Kerne noch in Teilung. Imm. 2 mm, Oc. 1. Carmalaun.

Fig. 36. Gesamtbild. Kopf in 6 Teile geteilt. Eines der Teilstücke, dessen Zellteilung noch nicht beendet ist, ist noch 2 kernig, mit 2 Centralkörnern. Obj. A, Oc. 3. Carmalaun.

Fig. 37. Teilung von Teilstücken. Imm. 2 mm, Oc. 4. a) Beginnende Teilung. Centralkorn geteilt. Beginnende Zellteilung. b) Kern und Centralkorn geteilt; fortgeschrittene Zellteilung. c) d) Stadien der Kernteilung. Carmalaun/Hämalaun.

Fig. 38. Ein Teilstück eines achtgeteilten *Wagnerella*-Kopfes; fertig geteiltes Exemplar war bereits vom Stiel einzeln losgelöst zu Boden gefallen. Pseudopodien. Achsenfäden. Centralkorn stark aufgelockert, wabig gebaut. Imm. 2 mm, Comp. Oc. 8. Carmalaun.

Tafel IX.

Fig. 39—47. Flagellosporenbildung (Gamogonie?).

Fig. 39—44. Imm. 2 mm, Comp. Oc. 1. Hämalaun.

Fig. 39. Basis mit unterer Stielpartie. Kern sehr chromatinreich. Vorbereitung zur Körnchenbildung

Fig. 40. Basis und untere Stielpartie. Auftreten der Chromatinkörner in der Umgebung des Kerns.

Fig. 41. Basis und untere Stielpartie. Beginn der Teilungen der Chromatinkörner; dieselben sind in Basis und Stiel verteilt. Degeneration des Hauptkerns.

Fig. 42. Basis und untere Stielpartie. Weitere Vermehrung der Chromatinkörnchen durch Teilung. Fortgeschrittene Degeneration des Hauptkernes.

Fig. 43. Basis und untere Stielpartie, Kopf und obere Stielpartie; der mittlere Teil des Stieles wurde wegen Platzmangels fortgelassen. Die Chromatinkörner haben sich weiter vermehrt und im ganzen Tier verteilt. Der durch Plasmazufuhr stark angeschwollene Kopf enthält das Centralkorn und viele sich teilende Chromatinkörner; in der fast leeren Basis liegen die Reste des degenerierten Hauptkerns.

Fig. 44. Späteres Stadium wie Fig. 43. Alles Plasma kopfwärts geflossen, Basis leer; in der unteren Stielpartie die Reste des völlig degenerierten Hauptkerns.

Fig. 45. Degenerierender Hauptkern beim Beginn der Chromatinkörnchenvermehrung. Imm. 2 mm, Comp. Oc. 8. Eisenhämatoxylin.

Fig. 46. Verschiedene Stadien von Teilungen der Chromatinkörner aus dem Stiel. Dieselben liegen in Vacuolen des Plasmas. Imm. 2 mm, Comp. Oc. 12. Hämalaun.

Fig. 47. Die verschiedenen aufeinanderfolgenden Entwicklungsstadien der Chromatinkörnerteilungen. (Sporenkernteilung.) Imm. 2 mm, Comp. Oc. 12. Hämalaun.

Taf. IX Fig. 48—Taf. X Fig. 58. *Wagnerella borealis*, dicke Generation.

Fig. 48. *Wagnerella borealis*, Exemplar der dicken Generation Übersichtsbild. Obj. A, Oc. 3. Carmalaun.

Fig. 49. Kopf und obere Stielpartie nach dem Leben. Vergr.? Kopfplasma fließt in den Stiel. Pseudopodien werden eingezogen. Centralkorn. Plasmastrahlung vom Centralkorn aus in den Kopf und Stiel hinein deutlich.

Fig. 50. Plasmapartie aus dem oberen Teile des Stieles nach dem Leben. Das Centralkorn war in den Stiel verlagert, der Kopf ganz rückgebildet. Plasma-

strahlung im Stiel vom Centralkorn ausgehend nur basalwärts vorhanden. Alveolarsaum. Imm. 2 mm, Comp. Oc. 8.

Fig. 51. Centralkörner aus dem Centrum wohlausgebildeter Köpfe. Imm. 2 mm, Comp. Oc. 8. Carmalaun. a) Pseudopodien dieses Tieres waren in Rückbildung begriffen und die Plasmastrahlung nur in den Stiel hinein wohl ausgebildet. b) Pseudopodien dieses Tieres und die Plasmastrahlung in Kopf und Stiel waren wohl ausgebildet.

Tafel X.

Fig. 52. 10 Teilung einer *Wagnerella* der dicken Generation. Übersichtsbild. toto. Obj. A, Oc. 3. Carmalaun. (Im Stiele Wachstumsverdickung.)

Fig. 53. Fertiges Teilstück desselben Tieres. Imm. 2 mm, Oc. 1. Centralkorn central, Kern exzentrisch. Plasmastrahlung. Kern nach dem Centralkorn hin etwas ausgezogen.

Fig. 54. Schizogonie. Übersichtsbild. toto. Der Hauptkern ist bereits simultan zerfallen; junges Stadium. Im Plasma der Basis und der unteren Stielpartie liegen alle Stadien der Vielkernbildung nebeneinander; im Kopf Centralkorn. Obj. A, Oc. 3. Carmalaun/Hämalaun.

Fig. 55. Älteres Stadium der Vielkernbildung; Basis und untere Stielpartie. Obj. DD, Oc. 1. Carmalaun.

Fig. 56. Noch älteres Stadium der Vielkernbildung; mittlere Stielpartie wegen Platzmangels fortgelassen. a) Basis und untere Stielpartie. b) Kopf mit dem Centralkorn und obere Stielpartie, in welcher bereits fertig ausgebildete Kerne liegen. Obj. DD, Oc. 1. Carmalaun/Hämalaun.

Fig. 57. Ruhender Hauptkern kurz vor dem Zerfall. Imm. 2 mm, Comp. Oc. 8. Schnitt; Eisenhämatoxylin.

Fig. 58. Die verschiedenen aufeinanderfolgenden Stadien der Vielkernbildung. Imm. 2 mm, Comp. Oc. 8. Eisenhämatoxylin; Schnitte. a) Chromatinbrocken, meist sehr kompakt und strukturlos kurz nach dem Zerfall des Kerns. b) Dieselben vacuolisiert ein wenig aufgelockert. c)—h) Dieselben lassen bei zunehmender Auflockerung ein achromatisches Kerngerüst erkennen; auf demselben ist verschieden viel Chromatin unregelmäßig verteilt, und je nach dem Chromatingehalt wird in demselben ein Caryosom mehr oder weniger deutlich erkennbar. i) Spindelartige Zweiteilung des Caryosoms mit deutlich ausgebildeten Centriolen. k) Caryosom 2 resp. 3 geteilt; die Kerne im ganzen aufgelockert, vergrößert; das Chromatin im achromatischen Gerüstwerk verteilt; auch die Caryosome stark chromatinhaltig. Kernmembran. l) 3 Caryosome liegen ziemlich central, umgeben von dichten Chromatinansammlungen, welche das achromatische Grundgerüst zum Teil verdecken, dasselbe ist nur peripher deutlich wahrzunehmen. m) Kern mit 5, mehr exzentrisch liegenden chromatinhaltigen Caryosomen. Chromatin im ganzen Kern unregelmäßig verteilt. n) Weiter fortschreitende Vermehrung der Caryosome in ungleich große Teilstücke. Chromatinverteilung unregelmäßig. o) Im Kern unregelmäßig verteiltes Chromatin. Die 7 Caryosome umgeben von je einer chromatinfreien Zone. Kernmembran sehr dünn. p) u. q) Fertig ausgebildete Kerne; im chromatischen Kerngerüst nur noch wenig Chromatin eingelagert, die ungleich großen Caryosome enthalten fast alle chromatischen Elemente des Kerns; Kern 58 p kurz vor seinem Zerfall, Kernmembran bereits aufgelöst.

(Aus dem Zoologischen Institut zu Marburg.)

Studien über *Amoeba terricola* Greeff.

Von

Wilhelm Grosse-Allermann (Elberfeld).

(Hierzu Tafel XI—XIII und 34 Textfiguren.)

Inhalt.

A. Einleitung.

In der Absicht, mich mit dem Studium der Fortpflanzung der Amöben zu beschäftigen, wählte ich auf Anraten von Herrn Professor Dr. E. Korschelt als Untersuchungsobjekt *Amoeba terricola* Greeff, die schon durch ihre Lebensweise von allgemeinem biologischen Interesse ist und deren Fortpflanzungserscheinungen noch wenig bekannt sind. Übrigens möchte ich von vornherein erwähnen, daß auch meine eigenen Untersuchungen hinsichtlich der Fortpflanzungsverhältnisse zu keinem abschließenden Ergebnis führten. Es bieten sich in dieser Beziehung recht große Schwierigkeiten, die sich vielleicht nur durch längere Zeit hindurch fortgesetzte Beobachtungen oder infolge eines glücklichen Zufalles überwinden lassen. Immerhin konnte ich über das morphologische und physiologische Verhalten der Amöbe, sowie über ihre Lebensweise eine Reihe von Beobachtungen machen, die gewiß der Mitteilung wert sind.

Ehe ich aber darauf eingehe, möchte ich einige wichtige Punkte aus der Literatur über *Amoeba terricola* besprechen.

Von manchen Autoren (s. w. u.) ist eine Amöbe beschrieben worden, die in vielen Punkten eine so große Ähnlichkeit mit *Amoeba terricola* aufweist, daß sie beispielsweise von Penard (26) mit ihr identifiziert worden ist. Es ist dies *Amoeba verrucosa* Ehrenberg. Dennoch aber erscheint es fraglich, ob sich dieses Vorgehen für alle Fälle, in denen *A. verrucosa* beschrieben worden ist, rechtfertigen läßt, und ob es sich wirklich immer um die gleiche Amöbe, insbesondere um *Amoeba terricola* handelt, wie sie von Greeff (11) 1866 als nova species aufgestellt, benannt und von ihm und später von Penard (26, 27, 28) genauer beschrieben worden ist, und zu welcher auch mein Untersuchungsobjekt unbedingt gehört. Das deutlichste Bestimmungsmerkmal für *Amoeba terricola*, das aus Greeff's Untersuchungen schon hervorgeht und von dem auch ich mich überzeugen konnte, bildet ihre Lebensweise in der Erde, d. h. in Moosen. Und dieses scheint auch nahezu das einzige zu sein, welches einen Artunterschied zwischen *Amoeba terricola* und *Amoeba verrucosa* feststellen könnte.

Zweifellos sind aber echte „Erdamöben“ unter dem Namen *Amoeba verrucosa* beschrieben und aufgeführt worden: u. a. auch nach dem Erscheinen von Greeff's Arbeit, von Scourfield (39) und, wie mir scheint, von Leidy (21, 22). Die synonyme Bedeutung der beiden Bezeichnungen ist aber nicht ohne weiteres für alle Untersuchungen über *Amoeba verrucosa* zu verallgemeinern. Ihre erste Beschreibung durch Ehrenberg (7) bietet allerdings wenig Anhaltspunkte zu einer Unterscheidung oder Identifizierung der beiden Amöben. Dasselbe gilt auch von Carter's *Amoeba quadrilineata*,

die zweifellos mit *Amoeba verrucosa* EHRENBERG identisch ist und auch von CARTER (4) selbst zu ihr in Beziehung gesetzt wird, obschon in diesem Falle das Vorkommen in einem austrocknenden Tümpel und die Encystierung auf ein Wasserleben hinweisen. Jedoch verschwanden die Amöben bei zunehmenden Regenfällen. Dieselbe Amöbe scheint vorzuliegen bei PERTY's (30) *Amoeba natans* und MERESCHKOWSKY's (24) *A. verrucosa.*

GREEFF selbst erwähnt in seiner Monographie nichts über die Beziehungen seiner Amöbe zu *A. verrucosa.* Erst aus einer späteren kurzen Notiz über die „Seeamöben von Ostende" (14) geht hervor, daß er beide für verschiedene Arten gehalten hat.

Erst LEIDY (22) bringt beide Amöben zueinander in Beziehung. Aus seinen Untersuchungen und vor allem seinen guten Abbildungen von seiner *A. verrucosa* geht eine überraschende Ähnlichkeit mit *A. terricola* hervor. Die verschiedenen Bewegungszustände und die wechselnden Kernformen finden sich in gleicher Weise bei *A. terricola*, und ich zweifle nicht daran, es bei vielen der von ihm abgebildeten Amöben mit *A. terricola* zu tun zu haben. Bekräftigt wird diese Annahme durch LEIDY's Angabe über die Fundorte der Amöben. Merkwürdigerweise kommt er beim Vergleiche der beiden Amöben zu einem negativen Resultat in bezug auf ihre Identität, und zwar auf Grund eines für Amöben sehr unmaßgeblichen Kriteriums, nämlich der Abweichung in den Größenverhältnissen und dem bei *A. terricola* und vielen anderen Amöben zeitweilig auftretenden „Zottenanhang", den er bei seiner Amöbe nicht beobachtet hat.

Eine ganz andere Species kann es aber sein, die GRUBER (15, 16) unter dem gleichen Namen beschreibt. Sie trat in einem Gefäße auf, in dem sie sich jahrelang hielt und woraus sie GRUBER immer wieder zu seinen Beobachtungen entnahm. Auch er geht ein auf den Vergleich mit *A. terricola*, läßt aber die Frage unentschieden mit den Worten (16): „Vielleicht ist auch GREEFF's *A. terricola* eine andere Art, denn der Kern wird von ihrem Entdecker in sehr abweichender Weise beschrieben." Zu beachten ist allerdings hierbei, daß bei LEIDY's (22) abgebildeten Amöben ebenso große Kernverschiedenheiten zu erkennen sind, der Autor sie aber doch zu einer Art zählt; und was *A. terricola* angeht, so bin ich zu der Überzeugung gelangt, daß den Abweichungen in der Kernstruktur keine ausschlaggebende Bedeutung als Bestimmungsmerkmale zukommen kann.

Einen sehr wesentlichen Beitrag zur Kenntnis der *A. verrucosa* gab RHUMBLER (33). Er legte die Amöbe als Untersuchungsmaterial seinem Werke über die: „Physikalische Analyse von Lebenserscheinungen der Zelle" zugrunde. Aus diesen Beobachtungen geht ganz besonders die Ähnlichkeit in der Lebensweise von *A. terricola* und *A. verrucosa* hervor. Auf diese Ähnlichkeit scheint sich PENARD zu stützen, wenn er sagt, daß GREEFF „. . . . subdivisait ce que l'on avait pu apercevoir et traiter jusque là comme *A. verrucosa* en 5 espèces, 1. *A. terricola*, 2. *A. similis*, 3. *A. sphaeronucleolus*[1]), 4. *A. fibrillosa* et 5. *A. alba* . . . ." und im

[1]) Bei GREEFF (11, 13) findet sich die Bezeichnung *A. sphaeronucleosus* und auch *A. sphaeronucleolosus*; wie schon PENARD (27) anführt, müßte es doch wohl *A. sphaeronucleosa* heißen. Er nennt sie aber tatsächlich *A. sphaeronucleolus* (Substantiv), welcher Bezeichnung ich mich angeschlossen habe.

Laufe seiner Arbeiten über *A. terricola* und „*Amibes à pellicule*“ sehr oft Rhumbler'sche Citate betreffs *A. verrucosa* als Beobachtungen über *A. terricola* anführt. Einer eingehenden Begründung aber entbehren diese Behauptungen. Diese Penard'schen Arbeiten sind mit der Greeff'schen Monographie wohl die eingehendsten, die über *A. terricola* erschienen sind, und ich werde noch wiederholt darauf zurückkommen.

In dem obigen Citat ist aber noch ein Umstand hervorgehoben, auf den ich jetzt näher eingehen muß. Ich meine die Einteilung der Erdamöben in 5 Species, denen Penard noch eine 6., *A. papyriacea*, angliedert, die Greeff in seinen späteren Untersuchungen vornahm.

Auch ich glaube, diese Formen, die sich hauptsächlich in der Kernstruktur, Größe, Dicke der Pellicula, Zähigkeit des Protoplasmas, Plasmastruktur und, was 4 und 5 angeht, in der Vielkernigkeit unterscheiden sollen, in meinem Untersuchungsmaterial wiedererkannt zu haben, bin aber der festen Überzeugung, daß es sich um eine und dieselbe Art — *A. terricola* — handelt, wie denn auch Leidy, der, abgesehen von der Vielkernigkeit, dieselben Unterschiede bei seiner *A. verrucosa* vorfand, keine Einteilung in verschiedene Arten vornimmt.

Ich werde diesen Punkt noch häufiger berühren, möchte aber vorerst einige Fragen untersuchungstechnischer Natur besprechen.

B.

I. Technische Vorbemerkungen.

Die Präparation und Konservierung vollzieht sich im großen und ganzen in der bekannten Weise. Als bestes Abtötungsmittel erwies sich heißer Sublimat-Alkohol-Eisessig, der vor den ebenfalls gut wirksamen Dämpfen der Überosmiumsäure den Vorzug hat, ohne Einwirkung auf die Färbbarkeit des Objektes zu sein. Das Heraufbringen in den hochprozentigen Alkohol nach dem Auswaschen mit 60proz. Jodalkohol muß wegen der Neigung der Amöbe zum Schrumpfen sehr allmählich geschehen, am besten in der Reihenfolge 40—60—78—96 Proz.

Als bestes Kernfärbemittel bewährte sich das Pikrokarmin (Ranvier), mit welchem man bei vorsichtiger Anwendung fast immer tadellose Färbungen erzielen kann. Die Dauer der Einwirkung ist aber sehr verschieden und nicht bestimmt anzugeben. Meistens tritt aber schon nach einigen Minuten eine gute Färbung ein, jedoch ist es immer angebracht, sie unter dem Mikroskop zu überwachen. Gute Plasmafärbungen erhielt ich mit Methylenblau, Neutralrot und Delafield's Hämatoxylin. Das Auswaschen und Differenzieren kann man mit Wasser oder salzsaurem Alkohol leicht bewerkstelligen. Zum Aufhellen des Objektes nach dem allmählichen Heraufbringen in Alkohol abs. sind Öle, wie Nelkenöl, Origanum- oder Bergamotteöl sehr geeignet.

Bei der Anfertigung von Schnitten wurde zunächst mit Pikrokarmin oder gut filtriertem Hämatoxylin (Delafield) überfärbt.

Zur Einbettung wurde Nelkenölcollodium und, bei größeren Materialmengen, gewöhnliches Paraffin verwendet, in das ich die Amöben aus Nelkenöl übertrug. Die angefertigten Schnitte waren 3—4 μ dick.

Zum Sammeln des meist seltenen Materials aus dem Moosrasen benutzte man früher eine Methode, die darin bestand, das Moos in Wasser aufzuweichen, auszuwaschen und auszupressen und die Amöben aus Moos- oder Schlammproben herauszusuchen. Da mir diese Methode, abgesehen von sehr wenigen Fällen, nicht annähernd soviel Material verschaffte, wie es zu einer erfolgreichen Untersuchung notwendig ist, so suchte ich eine andere Art des Auswaschens zu finden, durch die ich den überaus hinderlichen Materialmangel beseitigte oder doch weniger fühlbar machte.

Ich hatte beobachtet, daß bei langanhaltendem, starkem Regen die Amöben aus dünnen Moosschichten weggeschwemmt wurden. Auf diesen Umstand gründete ich meine Sammelmethode und führte sie in folgender Weise aus:

In eine längliche, bis auf die eine Grundfläche von ziemlich feinmaschigem Drahtgitter umgebene Trommel von 15 cm Durchmesser und 30 cm Höhe brachte ich locker geschichtet das Moos, das einige Zeit lang angefeuchtet in der Trommel verblieb, damit es ganz aufgeweicht würde (Textfig. A).

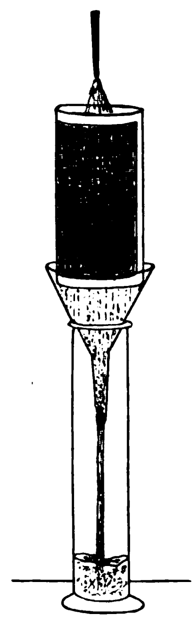


Fig. A. Spülvorrichtung für Moosauswaschungen.

Dann ließ ich einen sehr kräftigen Wasserregen durch die offene Seite der Trommel eintreten und von allen Seiten durch das Moos hindurchgehen. Er strich mit großer Geschwindigkeit an den Moospflänzchen vorbei und riß alles, was von geringerer Größe als die Drahtmaschen war und nicht zu fest an den Moospflänzchen haftete, mit sich fort. Das unten an der Trommel auslaufende Wasser wurde mit Hilfe eines Trichters in ein Gefäß mit möglichst großem Volumen, aber verhältnismäßig kleiner Grundfläche hineingeleitet, damit der Regen lange Zeit das Moos durchspülen könnte. War dieses geschehen, so preßte ich das Moos in der Trommel noch einmal gründlich aus und entfernte es. Nachdem der Schlamm sich in dem großen Gefäß abgesetzt hatte, goß ich möglichst viel von dem überstehenden klaren Wasser ab, da die Amöben mitsamt dem weitaus größten Teil der Moosfauna im Bodensatze verbleiben. Die im Verhältnis zur Grundfläche sehr große Höhe des Glases kommt einem beim Ausgießen sehr zu statten.

In den Fällen, wo das Material sehr selten war, wiederholte ich an diesem Punkte die Auswaschung mit frischem Moos und hatte es durch diese Kombination in der Hand, mich auch zu solchen Zeiten einigermaßen mit Material versorgen zu können.

Der Rest des Wassers aber in dem Glasgefäß wurde mitsamt dem Bodensatz durch wiederholtes Umgießen, Absetzenlassen und Abgießen des überstehenden Wassers in Gefäße von immer kleinerer Grundfläche gebracht,

und so die Amöben schließlich auf einer kleinen, etwa 1—2 qcm großen Schlammoberfläche zusammengedrängt. Von dort brachte ich sie mit dem Heber in eine Petrischale und suchte sie bei etwa 16 facher Vergrößerung aus den Schlammteilen heraus, um sie mit möglichst wenig Wasser zu isolieren. Es muß dieses aber möglichst bald nach dem Auswaschen geschehen, da sich die Amöben, wie schon Greeff und Penard erfuhren, in Moosaufgüssen nur sehr kurze Zeit halten und sich in größeren Mengen nicht züchten lassen. Aus demselben Grunde ist man immer auf das Sammeln des Materials direkt aus dem Moose angewiesen. In den günstigsten Fällen erhielt ich mit Hilfe dieser Methode aus allerdings großen Moosschollen bis zu 200 *A. terricola.* Meistens aber sind die Materialverhältnisse weniger günstig.

II. Biologie.

Was nun die Tierwelt der Moosrasen angeht, so ist sie schon so oft und eingehend beschrieben worden, unter anderen von Greeff (11), Maggi (23), Carter (4), Penard, Dujardin (6), Richters (34), Scourfield (39), Heinis (18) usw., daß ich mir ersparen kann, genauer darauf einzugehen. Ich möchte nur erwähnen, daß hin und wieder auch andere Amöben vorkommen, die nicht zu den typischen Erdamöben gehören. Es sind kleinere Formen, und sie scheinen den Species *A. gracilis* und *A. granifera* anzugehören, die Greeff (11) in seiner Monographie zusammen mit den Erdamöben beschreibt. Außer diesen aber fand ich *Pelomyxa villosa*, deren Ausschlüpfen aus Cysten ich mehrfach beobachtete und eine ganz kleine Amöbe, die augenscheinlich zu ihr in Beziehung stand.

Während nun bei längerem Stehen der Aufgüsse ein großer Teil der Tierwelt zugrunde geht, — die *A. terricola* schon nach 1—2 Tagen —, entwickeln sich andere Formen um so stärker und unter ihnen manche neu auftretende. Ich muß diesen Umstand erwähnen, weil sich immer und immer wieder eine kleine Amöbe einstellt, die sich bald vergrößert und vermehrt, und die ich deshalb zuerst als eine andere Generation von *A. terricola* ansprach. Bei genauerer Untersuchung stellte sich aber die Art als eine gut zu definierende heraus und zwar, wie mir scheint, als die neuerdings von Doflein genau beschriebene *A. vespertilio.*

Je nach der Beschaffenheit des Moosrasens und seinem Fundort wechselt aber auch die Zusammensetzung der Tierwelt; und diese Erscheinung macht sich besonders geltend im Vorkommen der Amöben,

obschon ihre Verbreitung im allgemeinen ubiquitär ist, wie auch schon zum Teil aus den Titeln der oben angeführten Arbeiten hervorgeht (siehe Literaturverzeichnis).

Ich suchte nun festzustellen, von welchen Bedingungen im einzelnen ihr Vorkommen abhängt, und die Resultate, zu denen ich gelangte, mögen im folgenden mitgeteilt sein:

Hauptsächlich fand sie sich an schattigen Waldpartien, wo das Moos in dichtem Rasen große Steine überzog, während sie sich nur in sehr geringer Anzahl in Sumpfmoosen aufhält und ebenso an solchen Stellen, die der Sonnenbestrahlung und der Verdunstung stark ausgesetzt sind.

Aber diese Ortsbestimmung vermochte mich nicht vor Enttäuschungen zu bewahren, denn es zeigte sich, daß auch die Beschaffenheit der Unterlage des Moosrasens als ein wesentlicher Faktor mitsprach, indem die Ausbeute nur bei solchem Rasen sehr ergiebig war, der sich nicht direkt auf dem Waldboden oder Baumstämmen ausbreitete, sondern dicke Steine mit einem Teppich überzog.

Schließlich ist selbst an diesen Orten noch ausschlaggebend die Moosflora und dieses ist, wie mir scheint, ein sehr wichtiger Punkt, so daß ich noch mit kurzen Worten näher darauf eingehen möchte.

Von den verschiedenen Moosgattungen, die solche Steine, Rasen bildend, bedecken, zeigte sich hauptsächlich e i n e von Amöben und anderen Tieren reich bevölkert. Es waren verschiedene Species der Gattung *Hypnum*. Bei der Betrachtung der Organisation dieses Pflänzchens wurde ich auf einen Umstand aufmerksam, der vielleicht eine Erklärung abgeben kann für die Bevorzugung dieser Arten. Die Hypnumblätter, die in der Feuchtigkeit vom Stengel abstehen, legen sich bei zunehmender Trockenheit dichter an und halten, da außerdem die dem Stengel abgewandte Seite nach außen gewölbt ist, die Feuchtigkeit noch lange zurück. Sie mögen so regulatorisch wirksam sein auf die Wasserverteilung im Rasen, denn selbst bei ziemlich trockenem Wetter zeigen sich die Pflänzchen bei genauerem Zusehen immer noch feucht.

Ich muß hierauf gelegentlich der Beschreibung der Austrocknungsversuche und Besprechung der Encystierung noch einmal zurückkommen.

Um nun über den Aufenthaltsort der Amöbe im Moose mehr zu erfahren, untersuchte ich einzelne Teile des Moospolsters eingehender, indem ich Pflänzchen und Humusboden, jedes für sich, einer Auswaschung unterwarf. Ich kam zu dem Resultate, daß die Pflanzen selbst, besonders der mittlere und obere Teil und nicht die Erde,

die eigentlichen Wohnstätten der Amöben und eines großen Teiles der anderen Moosfauna sind. Die Untersuchungen der einzelnen Pflänzchen auf Amöben aber führten zu keinem abschließenden Resultate, und das wird verständlich, wenn man die äußerst spärliche Verteilung der Amöben auf die einzelnen Pflänzchen berücksichtigt und daß die verhältnismäßig großen Schmutzmengen, die Blätter und Stengel bedecken, ein Auffinden des kleinen Objektes sehr erschweren.

Einen Fingerzeig konnten mir nur die sehr zahlreich vorhandenen Foraminiferen geben. Es schien mir sehr wahrscheinlich, daß sie mit den Amöben den gleichen Aufenthaltsort bevorzugen, und wirklich zeigten sich Stengel und Blättchen zahlreich mit Foraminiferen besät. Die wenigen Male, wo ich nach dem Befeuchten der Pflänzchen Amöben fand, lagen sie in dem die Blättchen bedeckenden Schmutz, und eine kroch allerdings in sehr charakteristischer Weise an den Blättchen entlang (Fig. 27).

Ein periodisches Schwanken des Vorkommens unserer Amöbe, entsprechend den Jahreszeiten, konnte ich noch nicht beobachten, dagegen glaube ich wohl, einen Zusammenhang mit den klimatischen Schwankungen, vor allem in bezug auf Feuchtigkeit, wahrgenommen zu haben. Doch werde ich auf diese Erscheinung später noch einmal zurückkommen.

Daß starker Regen den Amöbenbestand der Moosrasen verringert, geht ja schon aus meiner Bemerkung im Anfange des vorigen Abschnittes hervor. Doch ist dieser Umstand auch noch aus einem anderen Grunde interessant, und es verlohnt sich, darauf einzugehen.

Nach solchem anhaltenden starken Regen bilden die ablaufenden Wasser Tümpel und Pfützen, in denen sich bei längerem Verweilen bald die typische Sumpffauna ansiedelt. Es ist nun mehr als wahrscheinlich, daß sich *A. terricola* wenigstens zeitweise darin aufhält, wenn auch nur für kurze Zeit.

Sicher ist sie auch darin schon gefunden und unter anderen als *A. verrucosa* beschrieben worden, da, meines Wissens, niemals typische Wasseramöben unter dem Namen *A. terricola* angeführt und untersucht worden sind. Ich habe selbst solche in der Nähe von Moosrasen periodisch stagnierende Pfützen auf Amöben untersucht, aber keine Formen gefunden, die ich für *A. terricola* halten konnte. Jedoch schließt das nicht aus, daß genauere Untersuchungen das zeitweilige Auftreten von *A. terricola* in diesen Waldtümpeln bestätigen könnten. Andererseits habe ich mehrere Male eine Amöbe gefunden, die *A. verrucosa* sein konnte, und zwar in Wasser aus einem Gefäße, das schon längere Zeit stand und in dem *A. terricola* nicht lange leben

kann. Das Tier sah einer kleineren *A. terricola* sehr ähnlich. Leider konnte ich es nicht weiter verfolgen.

Und so ist es mir nicht gelungen, die Frage nach der Identität oder Verschiedenheit von *A. verrucosa* und *A. terricola* zu beantworten. Nach alledem aber könnte es sich bei einer Identifizierung der beiden bei *A. verrucosa* wohl nur handeln um ein bestimmtes Entwicklungsstadium, etwa die Jugendform, oder um eine besondere Generation der *A. terricola*; und diese Vermutung finde ich in einer etwas anderen Form schon ausgesprochen von PENARD (29), indem er sagt: „Or il est fort probable que l'*Amoeba quadrilineata* de CARTER représente en fait la forme jeune de l'*Amoeba terricola.*" *A. quadrilineata* CARTER und *A. verrucosa* EHRENBERG aber sind höchstwahrscheinlich identisch, wie schon in der Einleitung hervorgehoben ist.

III. Morphologie.

1. Äußere Gestalt.

Die äußere Gestalt der *A. terricola* ist von GREEFF (11) und PENARD (26, 27) so eingehend beschrieben worden, daß ich nur oberflächlich darauf einzugehen brauche.

Nicht wie bei den meisten anderen Amöben ist in diesem Falle die Rhizopodennatur gleich zu erkennen. Wie kleine unregelmäßig gestaltete, krystallartige Gebilde liegen die Amöben im Wasser, ohne erkennbare Bewegung. Erst bei genauerem Zusehen bemerkt man die träge Bildung der stumpfen, warzigen Pseudopodien. Je nach der Art der Bewegung aber ist das Aussehen sehr wechselnd, so daß man oft glauben muß, es mit verschiedenen Arten zu tun zu haben (Fig. 11, 12, Textfig. C, D, E). Auch die Größe der Amöbe schwankt sehr, abgesehen von ganz kleinen Individuen, gewöhnlich zwischen 90—200 μ, seltener kommen auch noch größere vor.

2. Plasma.

Ecto- und Entoplasma sind deutlich gesondert. Ersteres ist stark lichtbrechend, hyalin und zähflüssig und immer, wenn auch nur als schmaler Saum dem Entoplasma vorgelagert. Im Leben ist auch bei stärkster Vergrößerung keine Struktur zu erkennen. Die

vielkernigen Erdamöben sind meist größer, und die beiden Plasmaarten scheinen nicht so klar voneinander geschieden, weil das Ectoplasma meist nur als ein sehr schmaler Saum zu erkennen ist.

Daß dieser Unterschied zwischen ein- und vielkernigen Amöben kein fundamentaler ist, ergab sich bald aus der Untersuchung der Schnittpräparate (Fig. 1, 2).

Ich wurde auf die Untersuchung der Plasmastruktur auf Schnitten hingewiesen durch Greeff's (12) Beschreibungen von „motorischen Fibrillen im Ectoplasma von *A. terricola*“, die er auf Schnitten, besonders deutlich aber nach der Behandlung der Amöbe mit Osmiumsäure und schwachprozentigem Alkohol, gesehen haben will. Dieses Experiment habe ich oft wiederholt und glaube auch die Gebilde, die Greeff für Fibrillen hielt, gesehen zu haben. Es ist eine allerdings sonderbare radiäre Faserung im Ectoplasma, die ich aber für ein „Kunstprodukt“ halten muß, entstanden durch Schrumpfung bei der Einwirkung des Osmiumalkohols. Lägen hier wirklich echte Fibrillen vor, so hätte ich sie auf meinen vorsichtig angefertigten, teilweise unter Zuhilfenahme von Elastinfärbungen tingierten Schnitten sicher wiedererkennen müssen. Da die „Fibrillen“ bei manchen vielkernigen Erdamöben besonders deutlich zu sehen waren, so wurden diese von Greeff (12), der sie bis dahin als zu *A. terricola* gehörig angesprochen hatte, als besondere Art, *A. fibrillosa*, abgetrennt. Daß es sich auch hier um Schrumpfungserscheinungen handelt, besonders deutlich gemacht durch die größere Empfindlichkeit der vielkernigen Erdamöben gegen äußere Reize, zeigte mir desgleichen das vollständige Fehlen der „Fibrillen“ auf Schnitten (Fig. 2). Eine Artunterscheidung auf Grund dieses Kriteriums ist also in diesem Falle hinfällig. Auch auf den Schnitten zeigen sich Ecto- und Entoplasma deutlich geschieden (Fig. 1, 2). Ersteres umgibt das Entoplasma wie ein wechselnd breiter, ungleichmäßig gefärbter Hof. In letzterem aber ist deutlich ein gröberes Gefüge zu erkennen. Es ist von zahlreichen, wechselnd großen Hohlräumen durchsetzt. Durch Rekonstruktion ergibt sich aus den Schnitten das Bild eines schaumartigen Gefüges, dessen einzelne Hohlräume sehr unregelmäßig groß sind. Deutlicher noch als bei den einkernigen Erdamöben erkennt man den schaumigen gröberen Bau des Entoplasmas bei den vielkernigen (Fig. 2). Hier erscheint das Innere des Schnittes von zahlreichen, sich verästelnden Strängen durchsetzt, die die Querschnitte der Wabenwände darstellen. Die Hohlräume selbst sind hier im allgemeinen größer als bei den einkernigen Erdamöben. Die ganz großen jedoch, die sowohl bei den einkernigen wie vielkernigen auf-

treten, möchte ich mir allerdings doch entstanden denken durch die Einwirkung des Konservierungsmittels. Sie entstehen vielleicht durch Zusammenfließen der kleineren Hohlräume. Zwei chemisch ganz verschieden wirkende Konservierungsmittel wie die Osmiumsäure und Sublimatalkoholeisessig geben aber dennoch im wesentlichen dasselbe Bild. Im Leben sind die Waben wahrscheinlich mit einer serösen Flüssigkeit gefüllt von ungefähr dem gleichen Brechungsexponenten des Protoplasmas, weshalb das Entoplasma vollkommen strukturlos erscheint. Doch deutet die, schon von Greeff (13) beobachtete, netzförmige Anordnung der „Glanzgranula“ (siehe weiter unten) darauf hin, daß eine gröbere Struktur im Entoplasma vorhanden ist (Fig. 3). Auch bei absterbenden Amöben tritt sie in der eben beschriebenen Weise auf und ist auf manchen Totalpräparaten ebenfalls gut zu erkennen. Im allgemeinen wird sie beim lebenden Tier regelmäßiger sein und beim Konservieren durch Zerplatzen und Verschmelzen der kleineren Vacuolen das auf den Schnitten zu sehende Bild ergeben.

Das Entoplasma von *A. terricola* hat demnach in seinem gröberen Bau eine gewisse Ähnlichkeit mit dem von *Actinosphaerium* und *Pelomyxa villosa.* Auch für *A. vespertilio* (Doflein 5) und *Paramoeba Eilhardi* (Schaudinn 36) scheint das der Fall zu sein, wenn auch hier die Struktur sehr regelmäßig ist. Ganz anders gebaut ist zum Beispiel das Entoplasma von *A. blattae*, bei welcher nach Schubotz (38) zwei, durch ihr Lichtbrechungsvermögen sich schon äußerlich unterscheidende Plasmaarten vorhanden sind. Eine aktive Funktion bei der Bewegung kommt wohl dem Entoplasma von *A. terricola* nicht zu, vielmehr verändert sich das ganze Gefüge entsprechend den Kontraktionen des Tieres, wie ein Schaum, dessen Wände verschmelzen, Blasen ineinander überspringen, sich teilen und neu entstehen.

Das Ectoplasma ist viel konsistenter als das Entoplasma und in ihm ein gröberes Gefüge nicht zu erkennen (Fig. 1, *Ekt*). Zunächst gelang es mir auch nicht, eine feinere Plasmastruktur darin nachzuweisen, obschon die verschiedene Färbbarkeit des Ectoplasmas darauf hindeutet, daß eine solche vorhanden ist. Erst bei Anwendung sehr starker Vergrößerungen (1000—1500) gewann ich den Eindruck einer alveolären Struktur, wie sie Bütschli (2, 3) als Grundlage der Plasmastruktur annimmt, und wie sie von verschiedenen Amöben bekannt ist. Die Wabenwände des Entoplasmas aber sind in derselben Weise strukturiert, so daß nach dieser Richtung hin kein Unterschied zwischen beiden Zellbestandteilen vorhanden wäre; viel-

mehr setzt sich das Ectoplasma einfach in die Wände und Inseln des Entoplasmas fort.

Nur die Granulationen, die letzterem eingelagert sind, fehlen im Ectoplasma. Greeff (13), der sie genauer beschreibt, teilt sie in zwei Arten ein: „Elementargranula“ und „Glanzgranula“. Nach ihm sind die ersteren schwer sichtbare, hyaline, kugelige Gebilde, die „die eigentlichen Elemente des Protoplasmas im Entoplasma der Erdamöbe“ darstellen und „diesem seine Organisation geben und es gleichmäßig erfüllen“. Was Greeff damit gemeint hat, ist mir nicht klar, denn ich habe keine derartigen Gebilde gefunden, die ich für Formelemente des Protoplasmas halten könnte. Auch bei der Färbung mit Methylenblau, bei der sie sich schwach färben sollen mit einem stärker gefärbten Zentrum, habe ich sie weder am lebenden, noch am toten Objekt noch auf Schnitten wahrgenommen. Vielleicht ist es möglich, daß Greeff bei seinen eingehenden Untersuchungen die kleinen Alveolen der Plasmastruktur wahrgenommen hat. Die „Glanzgranula“ vermochte ich dagegen nach Greeff's Beschreibung sofort wiederzuerkennen. Sie treten durch ihr starkes Lichtbrechungsvermögen als dunkle Körnchen hervor und sind den Entoplasmawänden eingelagert. Oft sind es kleine Krystalle, meist aber sehr kleine runde Tröpfchen. Sie scheinen zum Stoffwechsel in Beziehung zu stehen, und ich werde bei der Besprechung der Verdauung noch auf sie zurückkommen.

Dem Entoplasma eingelagert sind ferner die meist in der Mehrzahl vorhandenen kontraktilen Behälter (Fig. 13, 16 *C. V.*) und die Nahrungsvakuolen, die auf Schnitten leicht an ihrer regelmäßig runden Wandung bzw. ihrem Inhalt zu erkennen sind (Fig. 1 *C. V.*). Auf letztere und die oft in der Amöbe auftretenden Tröpfchen (Fig. 16 *Tr*) werde ich später noch näher eingehen müssen.

3. Pellicula.

Dem Ectoplasma aufgelagert ist die Pellicula; sie hüllt die ganze Amöbe ein. Wie schon Greeff (11) fand, ist sie auch im Leben mit Hilfe von Methylenblaufärbung gut sichtbar zu machen als feines, violett gefärbtes, doppelt konturiertes Häutchen. Sie ist es, die der Oberfläche der *A. terricola* auch bei ganz schwacher Pseudopodienbildung das charakteristische Aussehen einer gefältelten, aber glatten Haut verleiht. Andere Amöben besitzen sie ebenfalls, aber bei keiner ist sie so von Wichtigkeit wie bei *A. terricola.* Sie ist deshalb von den beiden schon erwähnten Forschern Greeff und Penard (26, 27)

näher untersucht worden. Auf Schnitten, die mit Methylenblau gefärbt sind, stellt sie sich dar als ein feines Bändchen von sehr geringer Dicke (Fig. 1, *Pell*). Aber trotzem ist sie sehr fest, elastisch und von großer Widerstandskraft. Sie beeinflußt die Morphologie bei der Lebenstätigkeit unserer Amöbe in überaus charakteristischer Weise, und aus diesem Grunde hat Penard (27) die Erdamöben unter dem Namen „amibes à pellicule“ beschrieben. Sie ist sehr beständig und verhindert, daß Oberflächenteile, die miteinander in Berührung kommen, zusammenfließen. Sicher erhält sie ihre Konsistenz und Festigkeit durch den Einfluß des Wassers, das zeigt sich überall da, wo sie seiner Einwirkung entzogen wird (siehe weiter unten). Aber auf keinen Fall entsteht sie allein durch und sofort bei der Berührung des Ectoplasmas mit Wasser, denn sie kann bei Verletzungen nicht ohne weiteres von der Amöbe neu abgeschieden werden. Wegen ihrer Wichtigkeit muß ich auch im folgenden Abschnitt noch wiederholt auf sie zu sprechen kommen.

4. Kern.

Der Kern ist bei *A. terricola* sehr verschieden gestaltet (vgl. auch Leidy (22) *A. verrucosa*) und unter anderem auch auf Grund dieser Verschiedenheiten hat Greeff (13) die Einteilung in die oben genannten Species unternommen. Wie mir scheint, läßt sich eine solche Unterscheidung nicht durchführen, denn die vorkommenden Kernformen variieren so stark, wenn auch unwesentlich in der Chromatinverteilung, daß man eine Einteilung in sehr viele verschiedene Arten vornehmen müßte, was aber besonders mit Rücksicht auf die vollständige Übereinstimmung in der Lebensweise, Morphologie usw. ungerechtfertigt erscheint. Auch unter Zuhilfenahme anderer Bestimmungsmerkmale, wie Größe, Färbung, Beweglichkeit, wie Greeff (13) und Penard (26, 27) es getan haben, konnte ich mich nicht von einer Artverschiedenheit der von mir beobachteten Erdamöben überzeugen, da auch diese Merkmale sich bei *A. terricola* nicht scharf genug umschreiben lassen. Leider gibt Greeff keine Abbildungen von den Kernen der Erdamöben außer *A. terricola*, und die Penard'schen (27) sind so primitiv, daß sie nicht als Ausgangspunkt für solche Untersuchungen dienen können. Der gewöhnliche *A. terricola*-Nucleus ist von Greeff (11) sehr eingehend beschrieben worden, so daß ich nur weniges noch hinzufügen möchte. In seiner Größe schwankt er meist zwischen 20 und 30 μ, doch kommen natürlich größere und kleinere Formen vor. Die Gestalt ist ovoid,

wechselt aber stark mit den Kontraktionen der Amöbe, so daß er kugelig und wieder wurstförmig aussehen und dann oft ein Teilungsstadium vortäuschen kann (Textfig. B). Der eigentliche Nucleus liegt in einer Vacuole, die von einer hyalinen Flüssigkeit erfüllt ist und die der Kern fast ganz ausfüllt, so daß nur ein schmaler, oft fast nicht mehr sichtbarer Raum bleibt zwischen Kernmembran und Vacuolenwandung. Das Chromatin ist in wechselnd großen Brocken der Kernmembran innen aufgelagert (Fig. 1 Nucl., 4, 5, 6, 7). Das Innere des Nucleus ist erfüllt mit einer hyalinen Substanz, die sich stärker färbt als das Körperplasma. Bei starker Vergrößerung erkennt man auf Schnitten eine feine vacuoläre Struktur. Die Kernform der Penard'schen *A. papyriacea* (Fig. 7, 8) unterscheidet sich von der oben beschriebenen dadurch, daß das Chromatin in kleinere Bröckchen zerfallen ist und sich diffuser durch das Innere des Kernes verstreut hat. Die Verteilung und der Zerfall des Chromatins geht aber noch weiter, und manchmal erscheint der ganze Nucleus fast gleichmäßig davon erfüllt (Fig. 8). Zwischen diesen Formen aber finden sich alle Übergangsstadien (Fig. 4, 5, 6, 1 Nucl., 7, 8). Daß auch die Kernform der *A. sphaeronucleolus* (Fig. 9) zu den eben beschriebenen in Beziehung steht und durch weiteren Zerfall und Zusammenrücken des Chromatins im Innern des Nucleus entsteht, vermag ich leider nicht zu beweisen. Doch möchte ich es annehmen, denn ich sah die beiden Amöben sehr oft und verglich sie miteinander, vermochte aber in ihrer Lebensweise und Morphologie keine Unterschiede zu entdecken, so daß sich mir immer wieder die Überzeugung aufdrängte, es mit derselben Form zu tun zu haben. Es ist das die Kernform, wie sie Gruber (15, 16) von *A. verrucosa* beschreibt und die auch Leidy (22) zusammen mit der gewöhnlichen Kernform der *A. terricola* bei seiner *A. verrucosa* abbildet. Das Chromatin findet sich in Form von sehr feinen Tröpfchen im Zentrum des Nucleus zusammengeballt, einen kugeligen Nucleolus bildend (Fig. 9), von mehr oder weniger dichter Struktur. Meistens erscheint er durchsetzt von kleinen Vacuolen, hin und wieder aber auch als dichter Chromatinklumpen. In wenigen Fällen fand ich auch mehrere solcher Nucleoli vor, die die eben beschriebene Struktur zeigten (Fig. 20). Ich neige um so mehr zu der Ansicht, daß es sich hier um eine Kernform handelt, die aus dem Nucleus der *A. terricola* entstanden ist, als



Fig. B. Vorübergehende Längsstreckung eines Kernes von *A. terricola*, ein Teilungsstadium vortäuschend. Leitz Öl-Imm. 2 mm Ap., Ok. 3.

nach noch unveröffentlichten Untersuchungen von Tönniges über *Pelomyxa palustris* ein derartiger Vorgang bei den Kernen dieser Amöbe zu beobachten war, indem sich vor jeder Teilung ein Kern mit diffus bzw. am Rande verteiltem Chromatin in einen solchen mit zentralem Nucleolus umwandelt, der sehr viel Ähnlichkeit hat mit dem Kern der *A. sphaeronucleolus.* Die Nuclei der vielkernigen Erdamöben zeigen mit letzterem eine große Ähnlichkeit. Auch bei ihnen findet sich ein zentraler Nucleolus (s. w. u.) (Fig. 2, 10, 21, 22).

Im Ruhezustande sind die Kerne kugelrund, doch können sie auch ovoide Gestalt annehmen, und das tun sie besonders dann, wenn in einem Präparate Teilungsfiguren auftreten, so daß in solchen Fällen fast alle Kerne mehr oder weniger in die Länge gestreckt sind (Fig. 22b).

An dieser Stelle möchte ich nun die Betrachtung der Kernverhältnisse vorläufig abbrechen, um zur Beschreibung der Physiologie der *A. terricola* überzugehen.

IV. Physiologie.

1. Bewegung.

A. terricola ist eine derjenigen Formen, die sich sehr gut eignen zum Studium der bei den *Lobosa* vorkommenden Bewegungsarten, weil diese alle bei ihr zu beobachten sind (vgl. Penard 27). Es zeigt sich dabei die große Ähnlichkeit mit der von Rhumbler (33) vor allem nach dieser Richtung hin untersuchten *A. verrucosa* (Ehrbg.). Die beiden Formen der Ortsbewegung, rollende und fließende, sind gleich vorherrschend. Nach heftigen Störungen und Erschütterungen, wie beispielsweise nach dem Auswaschen, pflegen die Amöben meist in die erstere zu verfallen, wohl weil diese wegen der größeren Trägheit der zweiten gegenüber eine Art Ausruhen bedeutet. Wie bei anderen Amöben mit längeren Pseudopodien, beispielsweise *A. radiosa, A. vespertilio* u. v. a., kommt sie dadurch zustande, daß aus dem kugelig abgerundeten Amöbenkörper nach allen Seiten hin die hier stumpfen, warzigen Pseudopodien ausgebildet werden. Durch Vergrößerung eines der oberen wird der Schwerpunkt verändert und schließlich die Amöbe zum Umkippen gebracht. Sie ruht dabei immer nur auf den Spitzen der unteren Pseudopodien. Eine bestimmte

Zeitdauer für das Anhalten der rollenden Bewegung ist natürlich nicht anzugeben, sie ist sicher abhängig von dem Wechsel der äußeren Lebensbedingungen und der Reize, die auf das Tier ausgeübt werden.

Neben einer *A. terricola* in rollender Bewegung (Textfig. C 2, L.) sieht eine solche in fließender (Fig. 11, Textfig. D) oft aus wie eine

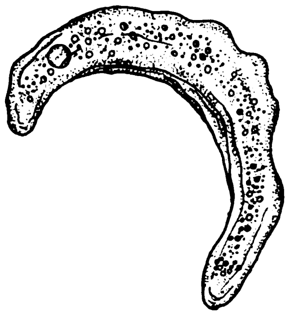


Fig. C 1.

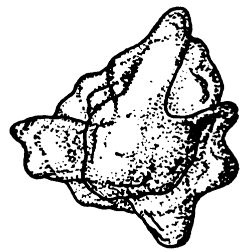


Fig. C 2.

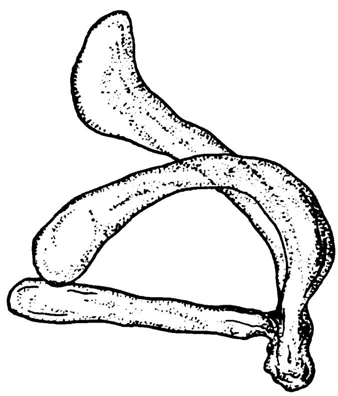


Fig. C 3.

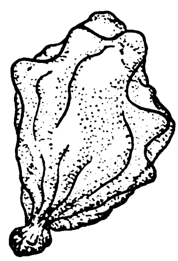


Fig. D.

Fig. C 1—3. Gestaltsveränderung einer vielkernigen Erdamöbe im Laufe mehrerer Tage. C 1 am 7. Oktober 1908, C 2 am 8. Oktober 1908, C 3 am 2. November 1908. C 2 rollende Bewegung, C 3 eigentümliches dreistrahliges Bewegungsstadium und sonderbare rollende Bewegung.

Fig. D. *A. terricola* in fließender Bewegung mit seitlicher Pseudopodienbildung und schopfartigem Hinterende.

andere Art. Und doch kann man sich durch genaues Studium davon überzeugen, daß eine und dieselbe Amöbe oft in verhältnismäßig kurzer Zeit die verschiedensten Bewegungsstadien durchläuft. Besonders auffällig ist das bei den vielkernigen Erdamöben. Textfig. C 1—3 stellt eine solche Amöbe zu verschiedenen Zeitabschnitten

dar. Abgesehen von der verschiedenen Art der Ortsbewegung ist auch der Grad der Beweglichkeit bei den fließenden Formen viel größer. Aber auch die Art des Fließens ist verschieden. Oft läßt sie sich mit der der Fortbewegung der *A. limax* vergleichen (Fig. 11). Sie wird dann hervorgerufen durch den sog. „Fontänestrom“ (Rhumbler 33), der eine vorwärtsfließende Mittelströmung von seitlich zurückkehrenden und hinterwärts wieder in diese einmündenden Seitenströmungen unterscheiden läßt, oder durch den sog. „Fontänewirbelstrom“ (Rhumbler 33), bei dem die Seitenströme in einzelne Wirbel zerfallen. Geht hier die Bewegung nahezu ohne seitliche Pseudopodienbildung vonstatten, so kommt doch auch dieser Fall nicht selten vor (Textfig. D). Die Strömungen, die dann auftreten, gleichen den von Rhumbler (33) bei *A. angulata* beschriebenen, wo die Plasmateilchen in den verschiedensten, sich kreuzenden, verzweigenden, parallelen und von einander unabhängigen Stromrichtungen davongeführt werden, ohne daß sie auf seitlichen Strömen zurückkehren. Sie bilden auf diese Weise Pseudopodien, aus denen sie sofort oder nach einiger Ruhezeit wieder herausfließen, um an anderer Stelle neue entstehen zu lassen. Bei der fließenden Bewegung läßt sich auch bei *A. terricola* wie bei vielen anderen Amöben, meist ein schmaleres Hinterende unterscheiden, das eine unregelmäßige, stark gefältelte, ziemlich starre schopfartige Anschwellung trägt (Textfig. D, C 3 s. a. Fig. 11, 12), von der aus oft eine Anzahl Längsfalten wie feine Linien die Oberfläche bis zu dem breiten ectoplasmareichen Vorderende durchziehen. Es sieht so aus, als ob der flüssige Amöbeninhalt durch stetige Kontraktionen nach vorn gepreßt würde, so die Bewegung zustande bringend. Und Greeff (11), wahrscheinlich durch seine Annahme motorischer Fibrillen unterstützt, bezeichnet denn auch dieses schopfartige Gebilde als „Kontraktionszentrum“, ganz im Gegensatz zu Rhumbler (33), der in diesem „Schopf“ eine „passive Last“ erkennt. Er erklärt, sich auf Bütschli (2, 3) stützend, solche Schopfbildungen durch einen Prozeß der Entoplasmabildung aus dem rückwärtsströmenden Ectoplasma, der vor dem Hinterende stattfindet, so daß diesem durch den „vor ihm wirbelnden Strom der Umwandlung Substanzen des leichter flüssigen Entoplasmas entzogen werden“, wodurch sich die Pellicula in Falten legen und das am Hinterende verweilende Ectoplasma durch die Tätigkeit des Wassers verhärten muß. Jedenfalls trifft diese Erklärung bei *A. terricola* schon aus dem Grunde eher zu, weil die starre Struktur und das passive Mitgezogenwerden des Schopfes deutlich zu erkennen ist. Was die Anschauungen Rhumbler's über die Amöbenbewegung an-

geht, so gewann ich den Eindruck, daß sie durch die Beobachtung der Bewegungserscheinungen bei *A. terricola* nur bestätigt bzw. gefestigt werden können. Auch hier reicht die Annahme kontraktiler Substanzen, die sich ja auch morphologisch nicht nachweisen lassen, zur Erklärung der vielseitigen Bewegungsformen nicht aus. Vielmehr scheint hier die Rhumbler'sche Erklärung vom Zustandekommen der Amöbenbewegung durch die Oberflächenspannung im Verein mit Umwandlungsprozessen des Entoplasmas in Ectoplasma unter dem Einfluß von Wasser in der Richtung der Vorwärtsbewegung und dem umgekehrten Vorgang nach dem Hinterende zu, wenn auch nicht vollständig, so doch weit eher das Richtige zu treffen. Jedenfalls deuten manche Vorgänge auf solche Umwandlungsprozesse hin (siehe weiter unten). Die verschiedenen Stromrichtungen sind oft deutlich charakterisiert durch mehrere, bis zum Hinterende vollständig getrennte Pseudopodien. Auch Penard (27) beschreibt solche zweiteilige V förmige Erdamöben und bildet eine ab, bei der diese beiden Bewegungsrichtungen einander vollständig entgegengesetzt sind, so daß ein Teilungsstadium vorgetäuscht wird (Textfig. E).

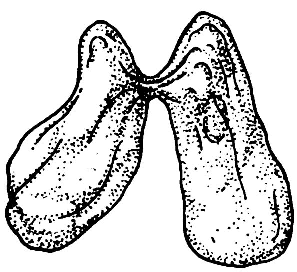


Fig. E. Sonderbarer Bewegungszustand einer *A. terricola*, ein Teilungsstadium vortäuschend, Kern in Ruhe.

Außer den so eigenartig zweiteilig gestalteten Amöben konnte ich andere mit drei und mehr solcher Pseudopodien beobachten, die am Hinterende oft nur durch ganz schmale Protoplasmabrücken miteinander in Verbindung standen (Fig. 12). Diese Amöben sehen sehr sonderbar aus im Vergleich zu dem Bilde, das man sonst bei *A. terricola* zu sehen gewöhnt ist. Sie verharren oft längere Zeit in dieser Form, — bis zu 10 Tagen konnte ich beobachten —, und ändern nur die Länge der Pseudopodien durch abwechselnd von einem ins andere ziehende Protoplasmaströme. Durch welche äußeren Reize sie hervorgerufen werden, konnte ich nicht feststellen, doch sind es keine pathologischen Erscheinungen, denn derartige Amöben traten häufig neben solchen im gewöhnlichen Bewegungszustande in Kulturen auf und kehrten meist nach einiger Zeit wieder in den gewöhnlichen Zustand zurück.

Manchmal bleiben die Pseudopodien nicht auf der Unterlage haften, sondern heben sich in den abenteuerlichsten Formen in die Höhe, wodurch das Tier in eine eigenartige rollende Bewegung übergeht (Textfig. C 3). In ihrem eigentlichen Elemente, im feuchten

Moose, bedient sich wohl die Amöbe unter günstigen Lebensbedingungen der fließenden Bewegung. Wenigstens zeigten sie die Amöben, die ich ohne Auswaschen an den in Wasser getauchten Moospflänzchen beobachtete, ohne Ausnahme. Besonders eine, die an einem Blättchen ziemlich schnell entlang glitt, erinnerte in ihrer höchst zweckmäßigen Bewegung an ein höheres Tier mit komplizierteren Fortbewegungsapparaten (Fig. 27). In diesem Falle zeigte sich auch deutlich, daß *A. terricola*, wie es von vielen anderen Amöben angenommen wird, imstande ist, an ihrer Oberfläche klebrige Substanzen auszuscheiden; das Vorderende hob sich plötzlich von dem Blatte ab, das ganze Tier streckte sich in die Länge, einem Nahrungskörper entgegen, der in Gestalt eines Blattstückchens in der Nähe lag. Als die Amöbe ihn berührte, krümmte sie sich zusammen und zog das noch nicht umflossene ziemlich große Blattstückchen zu dem anderen Blatte, auf dem sie mit dem Hinterende festsaß, herüber.

Rhumbler (33) beschreibt eigentümliche Ruhezustände bei verschiedenen Amöben. Einige runden sich ab, andere aber behalten die gerade angenommene Gestalt und verharren einige Zeit lang in vollständiger Ruhe. Auch bei *A. terricola* treten solche Ruhestadien auf, doch unterscheiden sie sich in ihrem Aussehen sehr von dem der gewöhnlichen Amöbe. Ihre Gestalt ist gleichmäßig ovoid abgerundet, ohne sichtbare Falten; Ecto- und Entoplasma sind deutlich getrennt. Ersteres umgibt wie ein hyaliner, gleichmäßig breiter, stark lichtbrechender Ring das körnige Entoplasma. Diese Ruhestadien sind wohl zu unterscheiden von den kugeligen, aufgequollenen Amöben (s. w. u.), die kein so stark lichtbrechendes Ectoplasma besitzen. Eine ganze Zeitlang verharrt die Amöbe in vollständiger Ruhe, als ob sie sich encystieren wolle. Genau konnte ich die Zeit nicht feststellen, doch dauerte sie sicher mehrere Stunden. Am anderen Tage hatte die Amöbe ihr gewöhnliches Aussehen und ihre Beweglichkeit wiedererlangt.

2. Stoffwechsel.

a) Nahrungsaufnahme.

Rhumbler (33) unterscheidet bei den Amöben zwei Arten der Nahrungsaufnahme: 1. durch „Import“, bei der die Amöbe ihre Beute ohne wesentliche Ortsveränderung in sich hineinzieht und 2. durch „Umfließung“, bei der die Amöbe aggressiv den Körper von allen Seiten mit ihren Pseudopodien umfaßt. Man kann sagen, daß sie

der rollenden und fließenden Bewegungsart entsprechen. Bei *A. terricola* kommen beide vor; die Nahrungsaufnahme durch Import ist hier besonders interessant und charakteristisch gemacht durch einen Invaginationsvorgang, der durch die große Konsistenz der Pellicula bedingt ist. Penard (26, 27) schließt mit Recht aus dem häufigen Auftreten der Invaginationsprozesse bei *A. terricola* auch auf ihr Mitwirken bei der Nahrungsaufnahme, und später gelingt es ihm, auch eine solche zu beobachten, die er kurz beschreibt. Es ist mir nicht gelungen, sie von Anfang bis zu Ende zu verfolgen, doch ermöglichen es einige Beobachtungen, die ich in folgendem mitteilen will, ein vollständiges Bild von ihrem Verlauf zu gewinnen.

Ich fand einmal eine *A. terricola*, die eine Euglypha ergriffen hatte und im Begriffe stand, sie in sich aufzunehmen. Sie lag ziemlich abgerundet und fast ohne Pseudopodienbildung im Wasser. An der Stelle aber, wo die Schalenöffnung ihre Oberfläche berührte, ging ein tiefer Kanal in das Innere hinein (Fig. 13). Gleich an seiner Einmündungsstelle verengte er sich trichterförmig bis etwa auf $^1/_3$ seines Durchmessers und durchzog dann in gleicher Breite von längsgefältelten, stark lichtbrechenden Wänden umgeben, fast das ganze Tier, um in einer blasigen Anschwellung blind zu endigen. Bei genauerer Beobachtung der Einmündungsstelle zeigte sich auch, wie die Nahrungsaufnahme bewerkstelligt wurde. Das Ectoplasma mit der Pellicula bewegte sich in radiärer Richtung allseitig auf die Schalenöffnung als Mittelpunkt zu (Textfig. F, Pfeilrichtung), sie gleichzeitig mit einem Walle flacher, wellenförmiger Pseudopodien umgebend. Die Innenseite des Ringwalles bildete die kraterförmige Kanaleinsenkung. In diese hinein ging die Strömung, den Kanal immer mehr vertiefend; dabei bildete die sich faltende Pellicula die stark lichtbrechenden Wände. Bis dahin hatte die Strömung nur den protoplasmatischen Inhalt der Foraminifere ergriffen und ihn durch die Kanalbildung geradezu aus der Schale heraus in die Amöbe hineingezogen. Er erfüllte den Kanal und die blasige Anschwellung vollständig. Dann aber stauten sich die im Protoplasma der Euglypha eingeschlossenen Schmutzpartikelchen und die harten unverdaulichen Reste von Nahrungskörpern in der engen Schalenöffnung und verstopften sie schließlich.

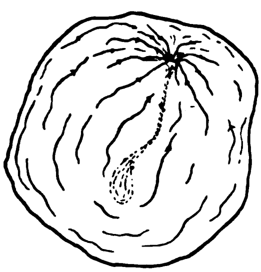
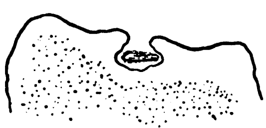


Fig. F. Schematische Figur zur Darstellung der Stromrichtung auf der Oberfläche und im Ectoplasma (Pfeilrichtung) einer *A. terricola* bei einer Invagination.

Der Rest Plasmainhalt konnte nicht mehr mitgezogen werden und kugelte sich im Hintergrunde der Schale ab. Die den Kanal vertiefende Strömung aber ergriff nun diese selbst, und die Amöbe schien sie ganz in sich hinein ziehen zu wollen, was um so wahrscheinlicher war, als sich sehr oft Foraminiferenschalen in den Amöben finden. Ich wartete aber das Ende nicht ab, sondern konservierte das Objekt.

Die Invaginationsvorgänge erfordern lange Zeit und müssen mit großer Kraftanstrengung vor sich gehen. Das zeigte sich deutlich in einem Falle, wo die aufgenommene Nahrung plastischere Konsistenz besaß. Es schien eine kleine *A. terricola* zu sein, doch war es nicht mehr genau festzustellen, denn nur noch ein kleiner Teil ragte als kugelige Anschwellung aus dem Kanal heraus. Der andere aber war durch die Invagination ganz in die Länge gepreßt und paßte sich der langen schlauchförmigen Gestalt des Kanales vollständig an (Fig. 14). Sehr langsam verschwand das Tier mehr und mehr in demselben, während das blasenförmige Ende sich erweiterte, um, wie es schien, das ganze Tier aufnehmen zu können. Leider ging mir diese wichtige Phase der Nahrungsaufnahme verloren, und es gelang mir nicht, die Beobachtung zu vervollständigen.


1

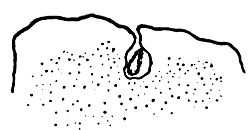
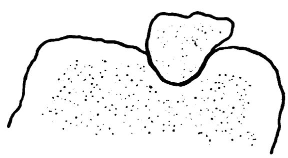

2

Fig. G 1, 2. Schematische Darstellung der Bildung einer Invagination durch die Reizwirkung eines Infusors (Anfangsstadium).

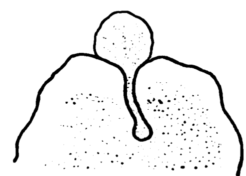
Den Anstoß zur Invagination gibt wahrscheinlich der durch die Berührung mit der Oberfläche ausgeübte Reiz. Wenigstens beobachtete ich einen dahin deutenden Vorgang bei einer von kleinen Ciliaten umschwärmten Amöbe. Eines der Tierchen berührte die Oberfläche, sofort bildete sich an derselben Stelle eine Einsenkung (Textfig. G 1, 2), in die das Infusor mit hineinsank. Oberhalb schloß sich die Höhlung bis auf einen kleinen Kanal, aus dem aber das im engen Raum lebhaft strudelnde Tierchen doch noch entwich.

Diese Vorgänge gestatten aber doch schon einen Einblick in den ganzen Verlauf der Nahrungsaufnahme durch Invagination. Um ihn kurz zu rekapitulieren, ist er in Textfig. H 1—5 schematisch dargestellt. Die Figuren H 1—3 entsprechen den oben geschilderten Beobachtungen. Der auf der Oberfläche, wahrscheinlich vermöge der klebrigen Absonderungen, haftende Nahrungskörper wird durch

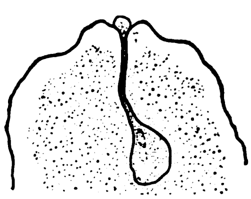
die Invagination in die Amöbe hineingezogen. Der weitere Verlauf ist nun unter Zuhilfenahme von Analogieschlüssen auf die weiter unten zu behandelnden Invaginationsvorgänge leicht abzusehen. Nachdem der ganze Nahrungskörper in den Kanal und weiter in die blasige Anschwellung aufgenommen ist (Textfig. H 4), verengt sich der noch eine Zeitlang sichtbare Kanal, das Wasser hinaus-



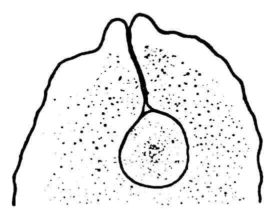
1



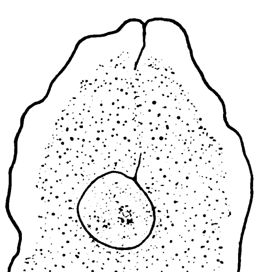
2



3



4



5

Fig. H 1—5.
Schematische Darstellung einer Nahrungsaufnahme durch Invagination s. S. 25 u. f.

pressend, bis schließlich die Pelliculawände, wahrscheinlich durch den immer mehr mangelnden, verhärtenden Einfluß des Wassers ihre Festigkeit verlieren und zusammenschmelzen. Ein Faden bleibt noch eine Zeitlang sichtbar, bis auch er vom Entoplasma aufgelöst wird, oder sich nach den beiden Enden hin in sich zusammenzieht und zerreißt (Textfig. H 5). Auch die Pelliculawände der Nahrungsvacuole werden aufgelöst und die Verdauung beginnt.

Der Nahrungsaufnahme durch Umfließung bedient sich *A. terricola*, wie es scheint, in ihren lebhafteren Bewegungszuständen und auch dann, wenn die aufzunehmenden Gebilde sehr klein oder lang und dünn sind, wie beispielsweise Diatomeen, Fadenalgen, Pilzfäden usw., wenn also die Pellicula nur von einem sehr kleinen Loche durchbohrt wird, welches leichter zu heilen ist. Dabei findet eine Aufknäuelung der Algen oder Pilzfäden statt, ähnlich derjenigen, wie sie RHUMBLER (33) bei *A. verrucosa* beschreibt. Oft aber fallen die umflossenen Nahrungskörper auf durch ihre außerordentliche Größe. Manchmal übertreffen sie das Volumen der Amöbe und erscheinen dann wie von einer dünnen Plasmahülle überzogen, wie es auch DOFLEIN (5) von *A. vespertilio* und NERESHEIMER (25) von *A. dofleini* beschreiben. Natürlich ist dann eine Fortbewegung unmöglich gemacht. Die Amöbe verharrt eine Zeitlang in dieser Weise, dem Körper die nötige Nahrung entziehend. Dabei gibt sich aber das Vorhandensein der Pellicula deutlich zu erkennen, indem die Umfließung eine unvollständige ist. Die Amöbe stülpt sich über den Nahrungskörper hinweg, jedoch ohne an der anderen Seite wieder vollständig zu verfließen. Es bleibt ein feiner Kanal übrig, ähnlich dem oben beschriebenen (Fig. 25), der erhalten bleibt, wahrscheinlich um das Ausstoßen der nicht aufgenommenen Substanz zu erleichtern. Daß auch in diesem Falle eine Verdauung eintritt, konnte ich mit Hilfe von Vitalfärbungen erkennen (siehe weiter unten).

Zur Nahrung der *A. terricola* gehören außer Algen, Diatomeen, Pilzfäden, Moossporen alle lebenden Bestandteile der Moosfauna, die eine gewisse Größe nicht überschreiten. Desgleichen aber auch tote und faulende Substanzen, meistens Blattstückchen und kleine schwarze Klümpchen des Humus, so daß oft ziemlich große Kieselstückchen als Reste solcher Nahrungskörper zu erkennen sind. Schon GREEFF (11) und PENARD (26, 27) weisen auf ihre große Gefräßigkeit hin, was die Größe der Nahrungskörper angeht. Doch entspricht das wohl ihrer Lebensweise, indem sie sich durch die einmalige Aufnahme sehr großer Nahrungsmengen auf lange Zeit hinaus von dem im Vergleich zum Wasser sehr starken Wechsel der Lebensbedingung unabhängig macht.

b) Verdauung.

Bei den Versuchen Vitalfärbungen anzustellen, zeigte *A. terricola* gegenüber manchen Farbstoffen dasselbe Verhalten, wie es HOFER (20) und STOLZ (40) von *A. proteus* beschrieben haben. Diese

Autoren verwendeten Bismarckbraun und Neutralrot und kamen zu dem Resultate, daß diese beiden Farbstoffe sehr dazu geeignet sind, einen Einblick in die physiologischen Verhältnisse bei der Verdauung und Neubildung von Plasma zu gestatten. Das bestätigt sich bei *A. terricola* außer für die genannten Stoffe auch für das Auramin; und dieses, sowie das Neutralrot verwandte ich nahezu ausschließlich. Wie immer bei den Vitalfärbungen, so muß man auch hier mit sehr verdünnten Lösungen arbeiten; auch ist es sehr angebracht, sich jedesmal ein paar Kubikcentimeter der betreffenden Verdünnung herzustellen. Ich erreichte eine geeignete Konzentration dadurch, daß ich die Spitze eines in die gesättigte Lösung getauchten Glasstabes in etwa 3 ccm destilliertem Wasser abwusch. Von dieser Lösung wurde ein kleiner Tropfen der lebenden Amöbe zugesetzt. Schon nach kurzer Zeit zeigten sich dann die Nahrungsvacuolen rot bzw. goldgelb gefärbt in den verschiedensten Abstufungen, da die Nahrungskörper ihre Eigenfärbung noch mehr oder weniger stark erkennen lassen (Fig. 25). In manchen Amöben sind neben den eigentlichen Nahrungsvacuolen stark lichtbrechende, hyaline Tröpfchen zu erkennen (Fig. 16 *Tr.*), über deren Bedeutung ich zunächst im unklaren war, bis sie sich durch die Vitalfärbung als zur Verdauung in Beziehung stehend erwiesen. Sie färbten sich wie die Nahrungsvacuolen kirschrot bez. goldgelb und sind dann, abgesehen von ihrer regelmäßigen Gestalt, nicht mehr von ihnen zu unterscheiden. Denn auch in ihnen sind nun stärker gefärbte, körnige Einschlüsse zu erkennen (Fig. 15). Wahrscheinlich entstehen sie aus den Nahrungsvacuolen oder wenigstens aus einem Teil derselben, denn die kleineren Nahrungsvacuolen gehen meist durch Zerfall aus einem aufgenommenen Nahrungskörper hervor. Das war in einem Falle besonders deutlich zu erkennen, wo der Körper — ein schwarzbraunes Humusstückchen — durch unvollständige Umfließung in die Amöbe aufgenommen war (Fig. 25). Die eine, dem Kanal abgewandte Seite war nach der Tinktion wie mit einem gelbbraunen Ring umgeben; dort lagen außerdem kleinere Nahrungsvacuolen angehäuft, die abgelöste Teile des großen Nahrungskörpers enthalten mußten. Sie wurden durch die Strömung in der Amöbe umher getrieben und vermehrten sich im Laufe weniger Tage. Sie zeigten alle Übergangsphasen bis zu den etwas kleineren Tröpfchen. Mit zunehmender Kleinheit dieser Gebilde aber ist die Färbung immer schwerer zu erkennen, doch schienen mir auch die „Glanzgranula“ wenigstens zum Teil gefärbt zu sein. Danach ist es sehr wahrscheinlich, daß diese aus solchen Tröpfchen hervorgegangen sind.

Die unverdaubaren Substanzen aber färben sich nicht, desgleichen auch nicht die Nahrungskörper in absterbenden Amöben. Vielmehr ist das Erlöschen der Färbbarkeit ein sicheres Reagenz auf den nahenden Tod. Es bestätigt dieses die Ansicht, daß weder die Verdauungssekrete der Amöbe noch die Nahrungskörper als solche die Eigenschaft der vitalen Färbbarkeit mit diesen Farbstoffen besitzen, sondern Stoffe, die bei der Einwirkung dieser beiden Komponenten aufeinander entstehen und sofort wieder zerfallen.

Werden die Amöben in frisches Wasser gebracht, so erlischt, im Gegensatz zu den Stolc'schen (40) Beobachtungen an *A. proteus*, die Färbung äußerst langsam.

c) Defäkation und Anmerkungen über Vitalfärbung.

Will sich *A. terricola* der nicht verdaubaren Substanzen entledigen, so kann sie es entsprechend den Vorgängen bei der Nahrungsaufnahme nicht in der einfachen Weise, wie die meisten anderen Amöben. Sie bedarf dazu wieder einer Invagination. Seltener wird der Fall eintreten, — und nur bei Objekten von geringem Querschnitte, wie beispielsweise Diatomeen —, daß einfach die Pellicula durchbohrt und der Nahrungskörper aus der Amöbe herausgeschnellt wird, so wie es Rhumbler (33) von *A. verrucosa* und Penard (26, 27) von *A. terricola* beschreiben. Ich selbst habe es nie beobachtet. Der letztgenannte Forscher aber, der sich eingehender mit den Invaginationsvorgängen beschäftigt hat, berichtet auch von der komplizierteren Form der Defäkation und bildet einige ihrer typischen Phasen ab. Ich kann mich seinen Beobachtungen vollkommen anschließen. Um das Verhalten der Pellicula bei der Defäkation im Vergleich zu dem bei der Nahrungsaufnahme zu beschreiben, habe ich den ganzen Vorgang, den ich sehr oft beobachten konnte, in Textfig. J 1—8 schematisch dargestellt.

Beim Beginn der Defäkation sind die Reste der Nahrungskörper der Oberfläche näher gerückt (Textfig. J1). Um sie herum beginnt die Pellicula durch Einstülpung eine erst flache, dann immer tiefer einschneidende, ringförmige Vertiefung zu bilden, deren innerer Durchmesser sich unterhalb der auszustoßenden Stoffe verringert und dadurch eine Art Blase, mit den Resten der Nahrungskörper als Inhalt, hervortreten läßt (Textfig. J 2, 3). Die äußere Wand der Einsenkung rückt nun immer näher an die innere heran, um schließlich mit ihr zu verschmelzen (Textfig. J 4, 5); auch in diesem Falle ist dies leicht erklärlich durch den mangelnden Einfluß des Wassers. Dadurch

aber vertieft sich der schon im vorigen Stadium angedeutete Kanal, — sein Durchmesser wird geringer, während gleichzeitig ein

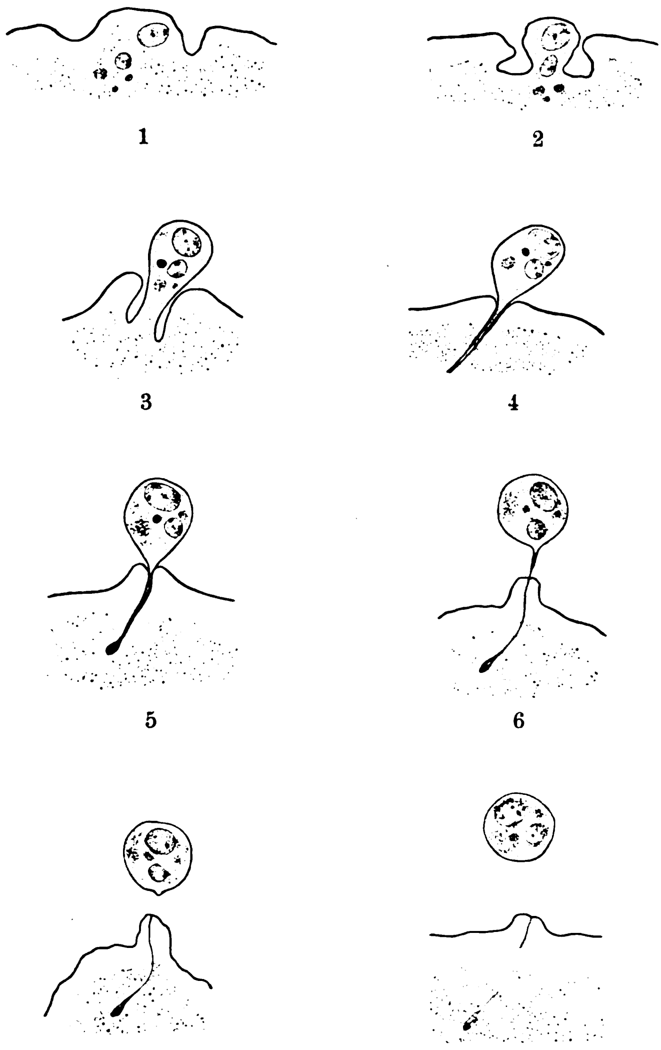


Fig. J 1—8.

Schematische Darstellung einer Defäkation mit Hilfe einer Invagination s. S. 29 u. f.

Anschwellen der bruchsackartig über die Oberfläche emporragenden Defäkationsblase zu beobachten ist. Augenscheinlich werden von innen noch diffus im Plasma verteilte Stoffe durch den Kanal hinein-

gebracht. Dann verschließt sich das tief im Inneren der Amöbe liegende Ende des Kanals durch vielseitiges Verschmelzen der Wände, so daß eine stark gefältelte Verdickung entsteht (Textfig. J 5). Wie es bei der Nahrungsaufnahme geschildert wurde, verläuft nun der Vorgang weiter.

Die Kanalwände verschmelzen zu einem Faden (Textfig J 6). Auf diesem Stadium löst sich meistens die Defäkationsblase, die sich hoch über die Oberfläche erhoben hat und nur noch durch einen dünnen, aber äußerst zähen Faden mit dem Kanaleingang in Verbindung steht, ab (Textfig. J 7). Sie bleibt im Wasser liegen, quillt auf, die Reste der Nahrungskörper zerfallen mehr und mehr, Parasiten treten auf, und bald ist nur die Pellicula übrig. Der Faden im Innern der Amöbe zerreißt, und nur ein feiner Strich im Ectoplasma deutet noch längere Zeit die Stelle an, wo die Invagination stattgefunden hatte (Textfig. J 8). Das verdickte gefältelte Ende des Kanales aber ist noch tagelang zu erkennen. Penard (27), der diese Vorgänge mit Hilfe der Methylenblauvitalfärbung genauer studierte, berichtet von seinem ferneren Schicksal, daß es unter allmählicher, von violett über blau fortschreitender Entfärbung in Granulationen zerfällt. Das letztere konnte ich nicht beobachten; sicher aber ist, daß solche bei manchen Invaginationsvorgängen zurückbleibende Restkörper vom Entoplasma aufgelöst werden. Ihr Umfang nimmt ab, und oft zerfallen sie in mehrere Stücke, bis sie unter den übrigen Einschlüssen des Plasmas nicht mehr zu erkennen sind. Vermöge der Methylenblaufärbung läßt sich dieser Punkt möglichst weit hinausschieben. Die Auflösung geschieht aber nicht durch die Verdauungssekrete, oder wenigstens nicht in derselben Weise, wie die Auflösung der Nahrungskörper erfolgt, denn mit Hilfe der Auramin- oder Neutralrotfärbung werden sie nicht tingiert und bei Doppelfärbungen mit ersterem und Methylenblau behalten sie die violett-blaue Farbe. Oft ist die Defäkationsblase mit zersetzten körnigen Substanzen ungleichmäßig angefüllt, die wahrscheinlich die zerfallenen Reste der Nahrungskörper darstellen. Wie es scheint, gehen mit einem Stück der Pellicula also auch kleine Plasmamengen bei der Defäkation verloren, doch wird der Verlust so gering sein, daß die Amöbe ihn leicht wieder ersetzen kann.

Daß die Defäkationsblasen aber manchmal die Größe erreichen, wie die in Fig. 17 dargestellte, ist wohl durch Aufquellung zu erklären. Da dabei die Pellicula ausgedehnt wird, scheinen solche Blasen oft zum Platzen zu kommen, denn ich fand hin und wieder

Defäkationsstadien, bei denen die ausgestoßenen Substanzen, noch von der zersetzten Pellicula teilweise umgeben, an der Mündungsstelle des Kanals teilweise festhingen. Oft wird der Defäkationsvorgang dadurch komplizierter, daß sich mehrere Blasen bilden, die aber alle mit einem Kanal in Verbindung stehen (Fig. 26), doch verläuft er natürlich auch dann im Prinzip in der geschilderten Weise.

In auffallendem Gegensatz stehen diese sonderbaren, durch die Konsistenz der Pellicula und der äußeren Plasmaschichten bedingten Vorgänge zu den gleichen Prozessen bei anderen Amöben. Meines Wissens ist nur von Neresheimer (25) bei *A. dofleini*, die *A. terricola* übrigens sehr ähnlich sehen soll, eine Defäkation beschrieben worden, die etwas an den gleichen Vorgang bei letzterer erinnert. Neresheimer (25) beschreibt sie folgendermaßen: „Sie geht hier so vor sich, daß von der Nahrungsvacuole bis zur Peripherie des Tieres sich ein feiner Kanal bildet, der hier mit einer kleinen Öffnung einmündet, worauf das Tier einfach wegkriecht, so daß der Kanal sich verkürzt und schließlich das Klümpchen frei liegen bleibt." Daraus geht hervor, daß der Kanal hier doch durch einen ganz anderen Vorgang als einer Invagination wie bei *A. terricola* gebildet wird, und daß nicht wie bei dieser ein kleiner Teil der Pellicula und des Plasmas verloren geht.

Daß es möglich ist, die Invaginationsvorgänge in ihren Einzelheiten so gut beobachten zu können, ist einem ausgezeichneten Hilfsmittel zu verdanken, nämlich eben jener Vitalfärbung mit Methylenblau. Sie ist von Greeff (11, 13) in ihrer Wirkungsweise auf *A. terricola* entdeckt und von Penard (26, 27) in weitgehendstem Maße angewendet worden.

Was denn überhaupt die Vitalfärbung angeht, so sei es mir gestattet, aus meinen Erfahrungen mit ihr an *A. terricola* einige Schlüsse allgemeiner Natur zu ziehen. Ich glaube, daß es sich sehr lohnen würde, wenn sie auf dem Gebiete der Protozoentechnik mehr Anklang fände. Bei dem Studium mancher Vorgänge bedeutet sie in ihrer einfachen Anwendbarkeit doch eine große Zeitersparnis gegenüber der Anfertigung von Präparaten. Und außerdem gestattet sie, die betreffenden Vorgänge in der Schärfe eines sehr guten Totalpräparates im Leben an wenigen Tieren beobachten zu können, von denen man sich vielleicht sonst nur ein Bild machen könnte durch eine große, ununterbrochene Serie von Präparaten. Was die Stoffwechselvorgänge bei *A. terricola* angeht, so gilt das in besonders charakteristischer Weise für die oben erwähnte Doppelfärbung mit

Auramin und Methylenblau, wodurch die verschiedenen mitwirkenden Faktoren in ihrer ganz differenten Wirkungsweise durch den Gegensatz in der Färbung besonders deutlich hervorgehoben werden. Fig. 25 stellt eine so gefärbte *Amoeba terricola* dar, die durch unvollständige Umschließung einen Nahrungskörper in sich aufgenommen hat, an dessen einer Seite die Wirkung der Verdauungssekrete durch die Auraminfärbung deutlich zu erkennen ist.

Meine Versuche über diesen Gegenstand richteten sich vor allem darauf, den Kern in dieser Weise zu färben, leider ist es mir nicht gelungen, zu einem positiven Resultate zu gelangen. Doch ist es nicht ausgeschlossen, durch eingehende Versuche einen Stoff zu finden, der in dieser Weise auf den Kern einwirkt. Bei anderen Protozoen ist das ja Przesmycki (32) bei *Opalina ran.*, und *Nictotherus* mit Hilfe von Neutralrot und Auramin gelungen.

Was die Anwendung der Vitalfarbstoffe angeht, so ist nur zu bemerken, daß sie in sehr verdünnten, wässerigen Lösungen angewandt werden müssen. Geschieht das, so erscheint eine nachteilige Wirkung auf den Organismus ausgeschlossen.

d) Excretion und Respiration.

Um die Stoffwechselvorgänge zu erschöpfen, muß ich noch auf die contractilen Vacuolen eingehen (Fig. 1, 13, 16 *C. V.*). Sie sind in der Mehrzahl vorhanden und deutlich ist zu sehen (vgl. auch Greeff 11, 13, Penard 26, 27, 28), daß ihnen keine feste Lage in der Amöbe zugewiesen ist. Sie werden wie die anderen Einschlüsse von der Strömung hin und her getrieben, geraten aneinander und verschmelzen, oder strecken sich wohl auch in die Länge und teilen sich, wenn ein Hindernis sie aufhält. Sie können eine außerordentliche Größe erreichen und sind dann meist in der Einzahl vorhanden, weil sie durch Zusammenfließen mehrerer bzw. aller anderen Vacuolen entstanden sind. Die Pulsation ist sehr unregelmäßig, und die einzelnen Vacuolen können sich unabhängig voneinander eine nach der anderen entleeren. Sie rücken dabei an die Oberfläche heran, die Pellicula vorwölbend, ihre Wandung sinkt dann langsam von innen nach außen zusammen. Oft ist die Entleerung eine unvollständige, indem noch eine kleine Vacuole zurückbleibt. An derselben Stelle treten zahlreiche, sehr kleine Pünktchen auf, die sich vergrößern und bald als minimale Vacuolen zu erkennen sind. Sie verschmelzen zum Teil miteinander, so allmählich wieder anwachsend.

Greeff (11, 13) und Penard (26, 27, 28) haben alle diese Vor-

gänge bei *A. terricola* genauer beschrieben und schon ersterem fiel es auf, daß bei der Entleerung nie ein Ausführungskanal zu erkennen ist. Nach seiner Ansicht ist außerdem die Menge der ausgeschiedenen Flüssigkeit im Verhältnis zu der in den Pulsationsintervallen aufgenommenen oder beim Stoffwechsel entstehenden Flüssigkeit viel zu groß, als daß eine Entleerung nach außen hin stattfinden könnte. Er spricht deshalb die contractilen Vacuolen als Respirationsapparate an. Penard (28) aber stellte mit Hilfe der Jennings'schen Methode zur Sichtbarmachung der Entleerung mit Hilfe fein verteilter chinesischer Tusche deutlich eine Entleerung nach außen fest; allerdings gelang es auch ihm nicht, einen Ausführungskanal zu entdecken. Er kommt deshalb zu dem Schlusse, daß es eine größere „Zone" in der Pellicula ist, die die Flüssigkeit durch unsichtbare Poren nach außen entläßt. Die Langsamkeit, mit der die Entleerung vor sich geht, läßt ja auch einen solchen Schluß zu. Nun sind aber von Rhumbler (33) bei *A. radiosa* und *A. gemminata* Entleerungen der contractilen Vacuolen nach innen beschrieben worden. Sie geschehen plötzlich und unter Bildung einer charakteristischen, unregelmäßig sternförmigen Figur, als ob die Flüssigkeit nach allen Seiten hin verspritzt würde. Beobachtet man nun die Entleerung einer contractilen Vacuole bei *A. terricola* von oben und unter dem Deckglase, so zeigt sich deutlich eine solche Sternfigur (Textfigur K). Sie ist so charakteristisch, daß man sich dem Eindruck nicht verschließen kann, daß tatsächlich ein Teil des flüssigen Inhaltes seitwärts durch die Spitzen des Sternes austritt. Ob sich nun wirklich dieser Teil nicht nach außen entleert und deshalb vielleicht der Respiration dient, konnte ich nicht feststellen. Möglich wäre es demnach allerdings.

Nach Penard (27) ist das Sauerstoffbedürfnis der *A. terricola* sehr groß. Er schließt es daraus, daß sie in Moosaufgüssen unter dem Einfluß der faulenden Substanzen so schnell zugrunde geht, während sie sich, in Uhrschälchen isoliert, viel länger hält. Diese Beobachtungen kann ich nur bestätigen. Um sie für längere Zeit am Leben zu erhalten, ist vor allem diesem Sauerstoffbedürfnis Rechnung zu tragen. An ihrem natürlichen Aufenthaltsorte in der Nähe der Pflanzen und assimilierenden Blätter ist ja dafür in überreichem Maße gesorgt. Bei Züchtungsversuchen (siehe weiter unten) gelangte ich deshalb zu den besten Resultaten, wenn ich die Amöben zusammenhielt mit kleinen Kugelalgen. Doch konnte ich es nicht, wie Doflein (5) bei *A. vespertilio*, zu einer dauernden Symbiose bringen.

e) Häutung.

Auf einen sonderbaren Vorgang, der, strenggenommen, auch in das Gebiet des Stoffwechsels gehören würde, weist Greeff (11) hin. Es ist das eine Art Häutung. Er beobachtete sie an einer solchen Amöbe, die einen sogenannten „Zottenanhang" trug, d. h. jenes schopfartige Hinterende, dessen einzelne Falten länger und haarförmig geworden sind. Die aktive Funktion bei der Nahrungsaufnahme und als Stützorgan bei der Bewegung, die Greeff (11) ihm zuschreibt, ist nach dem oben Gesagten wohl ausgeschlossen. Dieser Zottenanhang löste sich bei einer Amöbe ab und blieb als unregel-

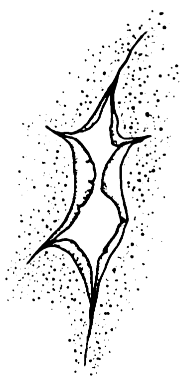


Fig. K.

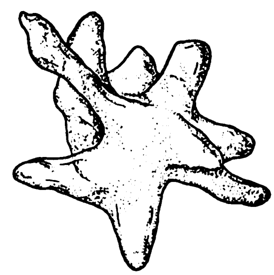


Fig. L.

Fig. K. Figur bei der Entleerung einer kontraktilen Vacuole der *A. terricola*. Die Entleerung von oben und unter dem Deckglas beobachtet.

Fig. L. Rollende Bewegung der *A. terricola* bei niederer Temperatur.

mäßig gefältelte Haut im Wasser liegen. Auch ich konnte einen analogen Vorgang bei einer jener dreistrahligen Amöben beobachten. Das schopfartige Gebilde schied sich im Laufe der Tage immer deutlicher von dem lebenden Plasma, seine Starrheit war nicht zu verkennen. Dabei nahm es an Umfang zu, als ob am Hinterende der Amöbe die Pellicula abgestreift würde. Schließlich wurde es abgestreift bis auf einen dünnen Faden, der noch die Verbindung mit der Oberfläche der Amöbe herstellte. Auf diesem Stadium wechselte das Tier wieder seine Bewegungsrichtung, so daß also, wie es auch Greeff (11) beobachtete, das Hinterende nicht durch den Anhang charakterisiert zu sein braucht. Leider starb die Amöbe ab, ohne daß es zu einer vollständigen Abschnürung gekommen wäre. Doch bezweifle ich nicht, daß sie ganz normalerweise stattfinden

kann, da man derartige abgeschnürte Gebilde sehr häufig im Wasser vorfinden kann.

Diese Hautabstreifung erklärt sich wohl in derselben Weise, wie nach Rhumbler (33) (siehe oben) die Entstehung des Schopfes. Immer mehr Partien der rückströmenden äußeren Ektoplasmaschichten mit der Pellicula verharren am Hinterende und verhärten, weil sie nicht mehr an dem Umbildungsprozeß Ecto-Entoplasma teilnehmen, durch den Einfluß des Wassers. Die Pellicula legt sich in Falten und bildet eine immer größer werdende zusammengeballte Haut, während sie am Vorderende neugebildet wird. Die Vitalfärbung mit Methylenblau scheint diese Annahme zu rechtfertigen, denn die Färbbarkeit nimmt vom Vorder- nach dem Hinterende hin stark zu, so daß Penard (27) veranlaßt wurde zu glauben, daß noch „... une couche très mince de matière visqueuse“, der Pellicula aufgelagert sei, „. . . dont l'Amibe est susceptible de se débarrasser lorsque cette matière lui devient unisible en la laissant en arrière dans son mouvement de progression . . .“

V. Einwirkung äusserer Einflüsse auf die Lebenstätigkeit und -dauer; Züchtungsversuche.

Die großen Schwierigkeiten, die sich bei Züchtungsversuchen einstellten, veranlaßten mich, die Wirkung verschiedener äußerer Einflüsse auf die Lebenstätigkeit und -dauer von *A. terricola* zu studieren. Es fiel mir bald auf, daß die Temperatur dabei eine sehr wichtige Rolle spielt; deutet doch schon die Lebensweise im feuchten Moose, wo die Verdunstung stets für Abkühlung sorgt, auf eine Bevorzugung niederer Temperaturen hin. Diese Vermutung fand ich durch Versuche vollauf bestätigt. Die für die Lebensentfaltung der Amöbe günstigste Temperaturzone liegt zwischen 10°—18° C. Steigt die Temperatur in dem Züchtungsgefäße über 20°, so stellen sich bald die ersten Anzeichen des Absterbens ein. Die Beweglichkeit wird geringer, vor allem aber nimmt die Widerstandsfähigkeit gegen äußere schädigende Einflüsse, wie insbesondere gegen Parasiten, stark ab. Bei 25° ist die Lebensdauer schon sehr gering, meist leben die Amöben nur wenige Stunden.

Oft ist das Absterben charakterisiert durch eigentümliche Auf-

quellungserscheinungen, wie sie auch Penard (26) beschrieben hat. Das Ectoplasma nimmt an Volumen zu, wie es scheint, unter Wasseraufnahme, sei es direkt von außen her, sei es dadurch, daß die zahlreich auftretenden Vacuolen sich nach innen entleeren. Sein starkes Lichtbrechungsvermögen nimmt ab; die Falten und Runzeln der Oberfläche verschwinden, die Pellicula glättet sich der Volumenvergrößerung folgend, bis sie schließlich straff gespannt das kugelig angeschwollene Tier umhüllt. Im Zentrum liegt nun das körnige Entoplasma mit dem Kern und den Nahrungskörpern. Es ist von einem breiten hyalinen Hof umgeben, der von der Pellicula umschlossen wird. Die Substanz, die ihn erfüllt, besteht hauptsächlich aus Wasser, was sich leicht zeigt, wenn man ein solches Gebilde zerdrückt. Die Flüssigkeit tritt aus, sich sofort mit Wasser mischend, während die Pellicula in Falten zusammensinkt. Wegen ihrer regelmäßigen Gestalt täuschen diese aufgequollenen Amöben oft Cysten vor, doch bewiesen mir eine Reihe von Versuchen, Beobachtungen und Präparationen, daß es sich um vollständig abgestorbene Organismen handelt. Keine Spur von Leben ist mehr zu erkennen. Nach kurzer Zeit fallen sie den Parasiten anheim, die sie bald bis auf die Pellicula gänzlich zerstören. Beim Austrocknen platzen sie.

Bedeutet die oben angegebene Temperaturzone zwar die günstigste für die volle, gesunde Entfaltung der Lebenstätigkeit von *A. terricola*, so sei damit noch nicht gesagt, daß sich unterhalb von 10° nun auch Krankheitserscheinungen einzustellen beginnen. Im Gegenteil, die Amöbe bleibt lebensfähig wie zuvor. Die fließende Bewegung aber scheint mit sinkender Temperatur vollkommen aufzuhören und einer rollenden Platz zu machen von sehr charakteristischer Art. Ziemlich lange Pseudopodien werden nach allen Richtungen hin ausgestreckt, so daß Formen entstehen, wie die in Textfigur L dargestellte. Auf diesem Stadium scheint die Funktion der contractilen Vacuolen noch nicht beeinträchtigt, und überhaupt macht das ganze Tier in seiner lebhaften Bewegungsart einen sehr lebenskräftigen Eindruck. Sinkt die Temperatur noch tiefer, so kugelt sich die Amöbe ab; die Pseudopodien werden kleiner und warzig und bedecken in großer Anzahl die ganze Oberfläche. Wenigstens befanden sich einige Amöben, die ich für kurze Zeit im Wassertropfen einfrieren ließ, nach dem Auftauen in diesem Zustande. Das Innere war von zahlreichen Vacuolen durchsetzt. Sie fließen bei steigender Temperatur in wenigere, größere zusammen, und die Pulsation beginnt wieder; auch die Beweglichkeit nimmt zu, und bald ist das Tier wieder vollständig zum Leben erwacht.

Gegen höhere Temperaturen verhält sich also *A. terricola* wesentlich anders als nach Doflein's (5) Beschreibung *A. vespertilio*, die sich sehr gut an Wärmegrade bis zu 37° anzupassen vermag, und umgekehrt scheint *A. terricola* wieder besser als diese, niedere Temperaturen zu ertragen.

Auch die Beschaffenheit des zum Kultivieren verwandten Wassers ist für die Lebensdauer der Amöbe von großer Bedeutung. Bewahrt man ein Tier in einem Tropfen Leitungs-, Quell- oder Sumpfwasser auf, so treten meistens schon nach wenigen Tagen die Absterbungserscheinungen ein. Die Amöbe kugelt sich ab und schrumpft, kleiner und kleiner werdend, zusammen, bis sie schließlich zugrunde geht.

Ganz ähnliche Vorgänge beobachtete Doflein (5) bei *Amoeba vespertilio*. Seine Annahme, daß es die durch die Verdunstung steigende Konzentration der gelösten Salze ist, die den schädigenden Einfluß ausübt, bestätigt sich für *A. terricola* auch durch ihr Verhalten in Salzlösungen bzw. Meerwasser, wo sie unter den gleichen Erscheinungen zugrunde geht.

Die Resultate, zu denen ich bei der Verwendung verschiedener Wassersorten gelangte, seien bei der folgenden Beschreibung der Züchtungsversuche mitgeteilt.

Nährsubstrate, wie Abkochungen von Moosen oder Setum versagten vollständig. Auch glaube ich aus der Biologie der *A. terricola* den Schluß ziehen zu dürfen, daß sie sich nicht wie beispielsweise *A. limax* (Vahlkampf 41) und *A. diploidea* (Hartmann und K. Nägler 17) u. v. a. auf Nährböden züchten läßt. Um sie länger am Leben zu erhalten, kann man weiter nichts tun als die Lebensbedingungen in den Züchtungsgefäßen möglichst ähnlich denen zu gestalten, wie sie die Amöbe an ihrem natürlichen Wohnort vorfindet. So ist es nötig, die zum Züchten verwandten Wassermassen möglichst klein zu wählen. Deshalb wurden einzelne Amöben in kleinen Tropfen auf dem Objektträger aufbewahrt; während sich für Amöben in größerer Anzahl Uhrschälchen und kleine flache Petrischalen gut eigneten. Diese gestatten außerdem den kleinen Wassermengen eine verhältnismäßig große Oberfläche. Durch diesen Umstand, wie auch durch häufiges Erneuern des Wassers mit solchem, dessen Sauerstoffgehalt durch Schütteln an der Luft angereichert war, vor allem aber durch Verwendung von Algen auf die oben beschriebene Weise wurde das große Sauerstoffbedürfnis der Amöbe befriedigt. Mangel an Sauerstoff macht sich bald an dem Einstellen der Beweglichkeit und an dem Auftreten der Aufquellungserscheinungen bemerkbar.

Um die Verdunstung einzuschränken, wurden die Objektträger und Schälchen mit den Tieren auf Gestellen unter großen feuchten Kammern aufbewahrt, in Gestalt von Glasglocken, die in eine flache Schale mit Wasser eintauchten oder über ein solches Gefäß gestülpt waren. Die letztere Anordnung ist mehr geeignet für die Schälchen mit größeren Mengen von Amöben. Um die Temperatur in den feuchten Kammern auch bei sehr heißem Wetter in den angegebenen Grenzen zu halten, regulierte ich sie durch Berieselung der Glocken mit kaltem Wasser oder mit Hilfe von Eis, das in größeren Stücken unter die feuchten Kammern gebracht wurde.

Die Ergebnisse der Züchtungsversuche besserten sich dadurch zusehends, doch wurden sie erst wesentlich günstiger, als ich begann, das verdunstende Wasser durch destilliertes zu ersetzen und später, durch den Erfolg ermutigt, überhaupt nur noch destilliertes Wasser, das höchstens mit sehr kleinen Quantitäten Leitungswasser gemischt war, zum Züchten verwandte. Diese Zusammensetzung des Wassers entspricht ja auch tatsächlich mehr dem Tau und Regenwasser, das die Moose benetzt und das flüssige Medium bildet, in dem *A. terricola* in der Natur lebt.

Zum Füttern lassen sich alle die oben angegebenen Organismen und Stoffe verwenden, die meist nur in kleinen Quantitäten zugeführt zu werden brauchen. Insbesondere leisteten mir auch hier Diatomeen und andere Algen gute Dienste. Hungernde Tiere bleiben verhältnismäßig lange am Leben, doch werden sie allmählich kleiner, und die Beweglichkeit nimmt ab, bis sie schließlich zugrunde gehen. Doch konnte ich dabei keine derartigen physiologischen Degenerationsvorgänge am Kern, wie sie R. HERTWIG (19) bei *Actinosphaerium* und PRANDTL (31) bei *A. proteus* feststellten, beobachten.

Eine andere Schwierigkeit, die sich nur durch die strenge Befolgung aller dieser Maßnahmen, insbesondere durch die oftmalige Erneuerung des Wassers, einigermaßen beseitigen ließ, besteht in dem schädigenden Einfluß der Parasiten, denen *A. terricola* bei der Züchtung besonders stark ausgesetzt erscheint. Hauptsächlich sind es Bakterien, Flagellaten, aber auch amöbenartige Organismen, deren Spezieszugehörigkeit mir nicht klar ist, die oft das Tier, seltener nur den Kern befallen und leicht Fortpflanzungserscheinungen, insbesondere Schwärmerbildungen vortäuschen (vgl. auch DOFLEIN 5 *A. vesp.*). Ein Fall von Kernparasitismus durch *Nucleophaga amoebaea* ist von PENARD (27) bei *A. terricola* eingehend beschrieben worden. Auch ich konnte einige der von ihnen beschriebenen, durch diesen Parasiten hervorgerufene Erscheinungen beobachten, doch sind meine

Beobachtungen über diesen Gegenstand nur sehr lückenhaft und stehen weit hinter den Penard'schen zurück. Wie sich die Amöbe mit den Parasiten infiziert, konnte weder von Penard, noch von mir festgestellt werden; doch vermute ich wegen der Konsistenz der Pellicula, daß es bei der Nahrungsaufnahme geschieht, und daß die physiologische Widerstandsfähigkeit des Plasmas durch die künstlich aufrecht erhaltenen Lebensbedingungen doch immerhin so geschwächt ist, daß der Parasit sich leichter entwickeln kann.

Mit Hilfe dieser Züchtungsmethode gelangte ich schließlich zu verhältnismäßig günstigen Resultaten. Während ohne die angegebenen Vorsichtsmaßregeln die Lebensdauer auch der einzeln aufbewahrten Amöben selten wenige Tage übersteigt, so hielten sich nun selbst größere Mengen bis zu einem Monat und einzeln gezüchtete nicht selten darüber hinaus, darunter eine vielkernige sogar 60 Tage in voller Lebenstätigkeit.

Bei diesen Zahlen wird es wundernehmen, wenn ich in meinen Kulturgefäßen nicht ein einziges Mal eine Fortpflanzung beobachtete; d. h. es fand auch wirklich keine statt, denn da ich stets über die Zahl der aufbewahrten Amöben Kontrolle führte, konnte ich sie nicht übersehen. Aber es trat keine Vermehrung ein. Die wenigen Stadien, die auf eine solche hindeuten (siehe weiter unten) fand ich stets beim Sammeln der frisch aus dem Moose ausgewaschenen Amöben.

Auch konnte ich nicht durch allmähliche Veränderung bzw. Verschlechterung der Lebensbedingungen eine Encystierung herbeiführen, wie es Doflein bei *A. vespertilio* gelang; insbesondere versagten auch die Austrocknungsversuche, die ich zu diesem Zwecke in großer Anzahl und in allen Variationen in der Zeitdauer anstellte, vollständig. Da auch Greeff bei *A. terricola* niemals eine Encystierung beobachten konnte, so kam er zu der Überzeugung, daß sie als Reaktion gegen Austrocknung niemals stattfinde, da die Amöbe durch ihre Organisation, insbesondere durch die Zähigkeit des Ectoplasmas hinlänglich geschützt sei. Diese Vermutung stützt Penard (27) durch eine Reihe von Versuchen. Er ließ *A. terricola* in kleinen Wassertropfen vollständig austrocknen und konnte sie durch nachherige Befeuchtung fast regelmäßig wieder zum Leben erwecken. Wie schon oben gesagt, wiederholte ich dieselben Versuche sehr häufig, aber mit ganz anderem Erfolge. War die Amöbe wirklich vollständig ausgetrocknet, so gelang es mir in keinem einzigen Falle, sie durch Befeuchtung zum Leben zurückzubringen. Ließ ich aber die Amöben in der Weise austrocknen, daß eine, wenn auch nicht äußerlich, so doch unter dem Mikroskop erkennbare,

geringe Feuchtigkeitsschicht durch Adhäsion an der Amöbe festgehalten wurde, so war die Wiederbefeuchtung von Erfolg; die Amöbe kehrte zum Leben zurück. Ich kann mir den Unterschied in Penard's und meinen Beobachtungen nicht anders erklären, als daß er die geringen Feuchtigkeitsmengen übersah. Sie können besonders dann ziemlich lange festgehalten werden, wenn die Amöbe in feuchter Atmosphäre liegt (beispielsweise in der feuchten Kammer) und von kleinen Schmutzpartikelchen wie Sandkörnchen, Blatt- und Humusstückchen umgeben ist. Jedenfalls kommt diese Eigenschaft der Amöbe bei ihrem Leben im Moose sehr zustatten, denn schon weiter oben wies ich bei der Organisation des Hypnumpflänzchens darauf hin, daß fast niemals alle Feuchtigkeit aus dem Moosrasen und vor allem aus dem Hypnumrasen verschwindet. Auf diese Weise kann also die Amöbe selbst an heißen Tagen die Zeit zwischen der regelmäßigen Befeuchtung durch Morgen- und Abendtau ohne Encystierung überdauern. Aus meinen Resultaten muß ich den Schluß ziehen, daß die Amöbe sehr anhaltende, vollkommene Trockenperioden nur durch die Bildung von Dauercysten überstehen kann. Leider habe ich die Tiere in lange Zeit hindurch aufbewahrtem, vollständig ausgetrocknetem Moose, — in dem sie also encystiert vorhanden sein müßten —, niemals sofort nach dem Auswaschen gefunden, sondern erst immer einige Zeit nachher, in der sie also schon ausgeschlüpft sein konnten. Nur ein einziges Mal habe ich ein Gebilde gesehen, welches eine Cyste von *A. terricola* sein konnte. Ich verdanke es der Freundlichkeit des Herrn Professor Richters (34) in Frankfurt a. M., der mich eine Präparatensammlung von Erdrhizopoden aus Moosen von der Antarktis (mitgebracht von der deutschen Südpolarexpedition) einsehen ließ, in der sich auch das cystenartige Gebilde befand. Für diese Freundlichkeit und manche andere Unterstützung in meinen Arbeiten über *A. terricola* möchte ich deshalb Herrn Professor Richters an dieser Stelle meinen herzlichen Dank aussprechen. Die Cyste ist in seiner Arbeit (siehe Literaturverzeichnis 34) abgebildet und beschrieben.

IV. Regenerationsversuche.

1. Wundheilung.

Penard (27), der wie schon oben bemerkt, die Invaginationsvorgänge genauer studierte, suchte sie auch künstlich herbeizuführen,

und es gelang ihm durch Verletzungen der Pellicula, die er durch Druck auf das Deckglas zustande brachte. Er beschreibt sie so genau, daß ich nur kurz darauf einzugehen brauche.

Im großen und ganzen ist es derselbe Vorgang wie bei der Nahrungsaufnahme, durch den das Loch in der Pellicula geheilt wird. Durch den Druck platzt an einer Stelle die Pellicula, ein wenig Plasma tritt aus, aber sofort beim Nachlassen des Druckes stülpen sich die Ränder des Loches ein und bilden allmählich den Invaginationskanal, dessen Ende auf die bekannte Weise durch Pfropfbildung verschlossen wird, worauf der Kanal verschwindet (siehe oben). Selbst bei größeren Rissen heilte die Amöbe die Wunde durch eine solche Invagination. In diesem Falle wurde das mit dem Wasser in Berührung gekommene Plasma regelmäßig, ähnlich wie bei der Defäkation, ausgestoßen. Auch ich führte solche Versuche aus und kann die Penard'schen Resultate bestätigen. Im Anschluß an die weiter unten beschriebenen Versuche über künstliche Teilung ging ich nun dazu über, den Amöben schwere Verletzungen beizubringen durch tiefe Einschnitte mit einem kleinen sehr scharfen Messer. Die Heilungsvorgänge, die dann eintraten, waren so interessant und von so regelmäßiger, wenn auch komplizierter Natur, daß ich näher darauf eingehen möchte. Erst mit Hilfe der Methylenblaufärbung und durch Beobachtung von verschiedenen Seiten gelang es mir, ein klares Bild davon zu gewinnen. In diesen Vorgängen zeigt sich besonders deutlich der vor allem durch die Pellicula bedingte Unterschied in der Organisation der *A. terricola* von der der meisten anderen Amöben, insbesondere *A. proteus*, an der ich vergleichshalber dieselben Versuche ausführte.

Ein Schnitt durch *A. proteus*, mochte er so tief sein, wie er wollte, — wenn nur die beiden Teilhälften noch durch eine schmale Protoplasmabrücke in Verbindung standen —, bedurfte keiner besonderen Heilungsprozesse, um zum Verschwinden gebracht zu werden. Die gewöhnlichen Bewegungsvorgänge reichten vollkommen aus. Entweder bildeten die Schnittränder auch zugleich die neue Oberfläche der Amöbe, während die Protoplasmabrücke durch Strömung einfach verbreitert wurde und verschwand, oder aber sie näherten sich einander und das Plasma floß wieder zusammen. Ganz anders bei *A. terricola*! Um die folgende Beschreibung der Heilungsprozesse zu verdeutlichen, habe ich sie in einer Reihe von Abbildungen dargestellt, und zwar so, daß jedem Stadium zwei von verschiedenen Seiten aus aufgenommene Figuren entsprechen (Textfig. M 1—5). Bei der Ausführung des Schnittes muß darauf Wert ge-

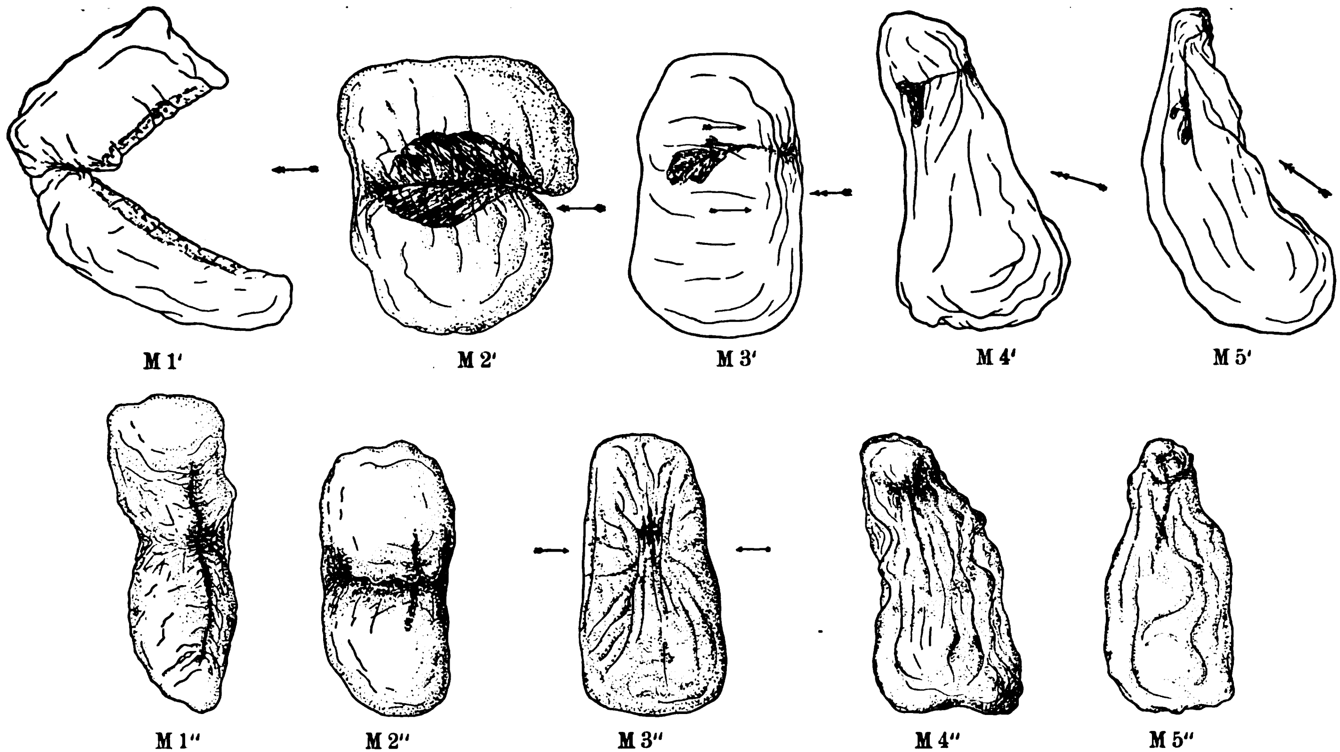


Fig. M 1—5. Darstellung einer Wundheilung bei *A. terricola* und der dabei auftretenden Invaginationsprozesse. Die Abbildungen der zweiten Figurenreihe 1"—5" entsprechen den betreffenden Abbildungen der ersten Figurenreihe 1'—5' und stellen die Amöbe dar in der Richtung des Pfeiles ←←• (zu unterscheiden von ←•) der Zeichnungen 1'—5' gesehen.

legt werden, daß er möglichst rasch und so geführt wird, daß kein Wasser durch ungeschickte Verschiebung des Messers ins Innere der Amöbe eindringt, wodurch sie getötet wird; und daß eine, wenn auch nur sehr kleine Protoplasmabrücke als Verbindung der beiden Teilhälften erhalten bleibt. Wird der Schnitt richtig ausgeführt, so werden gleichzeitig die Ränder des die innere Seite der Schnittwunde charakterisierenden Risses in der Pellicula aneinandergepreßt, so daß kein Wasser ins Innere eindringen kann.

Sofort nach dem Schnitt aber beginnen die Pellicularänder sich auf der ganzen Länge des Risses nach innen einzustülpen (Textfig M 1′ 1″), so daß dieser, in der Richtung des Pfeiles in Figur M 1′ betrachtet, wie eine Naht aussieht (Fig. M 1″). Während nun die Einstülpung sich vertieft, rücken die inneren Ränder der Schnitthälften aufeinander zu und legen sich dicht aneinander, als wollten sie verschmelzen (Textfig. M 2′ 2″). Doch tun sie das nur längs der nahtartigen Einstülpungsrinne der Pellicula und zwar auf großen Umwegen: Zunächst wird diese Stelle von beiden Seiten her (in Textfig. M 3′ 3″ durch die Pfeilrichtung ➛ angedeutet) durch eine Art Pseudopodienbildung umflossen und dadurch ins Innere des Tieres verlegt. Auf diese Weise entsteht ein Kanal, an dessen beiden Seiten die nahtartigen Invaginationen zu erkennen sind. Sie werden durch eine Strömung, die den neugebildeten Kanal durch Einstülpung noch zu vertiefen sucht, ins Innere der Amöbe verlagert und die Pelliculawände so zusammengefaltet, daß zwei Gebilde entstehen, die dann dem verdickten und gefalteten Verschluß eines gewöhnlichen Invaginationskanales sehr ähnlich sehen (Textfig. M 4′ 4″). Zu einem solchen aber wird durch Vertiefung der zuletzt durch Umfließung gebildete Kanal. An seinem Ende liegen schließlich die gefältelten Gebilde, die oft zu einem einzigen Verschmelzen und so seinen Abschluß bilden. Zu derselben Zeit aber strömt meistens ein großer Teil des Protoplasmas der einen Schnitthälfte über die schmale Verbindungsstelle in die andere über, (Textfig. M 3′,″—5′,″) wie mir scheint zu dem Zweck, um den die Mitte der Amöbe durchziehenden Schlauch an eine Stelle zu verlegen, wo er der inneren Plasmaströmung weniger hinderlich ist (Textfig. M 5′,″).

Die Beendigung des Heilungsprozesses geschieht in der bekannten bei den übrigen Invaginationsvorgängen geschilderten Weise, so daß schließlich nur die Kanalendigung als Restkörper im Innern noch längere Zeit zu erkennen bleibt.

Diese Vorgänge geben den klarsten Beweis, daß die Pellicula

kein vergängliches Gebilde ist, oder durch die Einwirkung des Wassers auf das Plasma entsteht. Im Gegenteil stirbt das Plasma ab, wo es mit Wasser in Berührung kommt und die Invaginationsvorgänge scheinen zum Teil den Zweck zu haben, diesen schädigenden Einfluß zu verhindern. Abgesehen davon aber zeigen sie allerdings auch, daß die Konsistenz der Pellicula von dem Einfluß des Wassers stark abhängig ist, denn nur dadurch, daß sie seiner Einwirkung entzogen und in das Innere der Amöbe gebracht wird, scheint es möglich zu sein, eine Verschmelzung herbeizuführen. Auch gewinnen die von Rhumbler (33) für die Amöbenbewegung angenommenen Umwandlungsprozesse von Ecto- und Entoplasma (siehe weiter oben) durch das Studium dieser Vorgänge stark an Wahrscheinlichkeit.

Das Heilungsvermögen der *A. terricola* ist sehr groß. Selbst mehrere tiefe Schnitte werden in derselben Zeit wieder zum Verschwinden gebracht. Die Invaginationsvorgänge sind in diesem Falle sehr komplizierter Art, aber sie verlaufen dabei im wesentlichen in derselben Weise, so daß ich mir ersparen kann, näher darauf einzugehen.

Die Dauer einer Wundheilung ist je nach der Größe der Verletzung und der Lebensenergie sehr verschieden und verhältnismäßig lang. Bis zum vollständigen Verschwinden des Kanales vergehen mehrere, nicht selten bis zu 12 Stunden.

Bei seinen Versuchen über diesen Gegenstand gelang es Penard (27) durch den Druck auf das Deckglas neben kleinen Plasmamengen auch den Kern zum Austritt aus der Verletzungsöffnung zu bringen. Auch solche kernlose Stücke schlossen den Riß sofort durch Invagination, doch nahm ihre Beweglichkeit ab, und nach wenigen Tagen gingen sie zugrunde.

2. Künstliche Teilung.

Um über solche kernlosen Stücke von *A. terricola* und ihr Verhalten Näheres zu erfahren und gleichzeitig die Resultate mit denen anderer Exnucleationsversuche von Hofer (20) und Stolć (40) an *A. proteus* vergleichen zu können, führte ich künstliche Teilungsversuche in größerer Anzahl und in der gleichen Weise wie die genannten Autoren aus.

Mit Hilfe eines kleinen sehr scharfen Messers wurde der Schnitt bei 16—20 facher Vergrößerung möglichst rasch und scharf geführt, damit, aus dem oben schon erwähnten Grunde, ein Eindringen des Wassers in die Amöbe vermieden wurde. Dadurch

wurde das Tier in zwei annähernd gleich große Teilstücke zerlegt, von denen eines den Kern besaß. Denn niemals gelang es mir diesen selbst zu treffen und ihn zu teilen oder Stückchen von ihm abzuschneiden, immer wich er der Schneide aus. Dieses Verhalten konnte mir, zusammen mit der kurz vor dem Absterben erfolgten Färbung beider Teilstücke, eine Sicherheit bzw. Kontrolle für die Richtigkeit meiner Beobachtungen geben. Man tut natürlich gut, den Schnitt auch so zu legen, daß die verschiedenen Stücke auch durch andere Merkmale, wie Größe, Farbe und Anzahl der Nahrungskörper zu unterscheiden sind.

Da ich meine Aufmerksamkeit und Zeit nicht vollständig auf diese Versuche verwenden konnte, so war es mir, wie ich gleich zu Anfang bemerken möchte, auch nicht möglich, darin zu abschließenden Resultaten zu gelangen.

Schon bei den ersten Versuchen glaubte ich zu erkennen, daß das Verhalten der Teilstücke in bezug auf die Bewegung ein ganz anderes ist, als bei *A. proteus* nach Hofer's (20) Beschreibung.

Eine Reihe künstlicher Teilungsversuche, die ich in derselben Weise an *A. proteus* vornahm, führten mir diesen Unterschied besonders deutlich vor Augen; und so überzeugte ich mich auch durch eigene Wahrnehmung von der Richtigkeit der Hofer'schen Beobachtungen. Bei dieser Amöbe ist schon wenige Minuten nach dem operativen Eingriff ein großer Unterschied im Verhalten der beiden Teilstücke zu erkennen. Während der kernhaltige Teil seine Bewegungsfähigkeit ganz wie die normale Amöbe beibehält, kugelt sich der kernlose ab, und seine Bewegung geht ganz schwach, rotierend, unregelmäßig, ruckweise und unzweckmäßig von statten. Ein solcher tiefgehender Unterschied ist dagegen bei *A. terricola* nicht zu bemerken. Doch ist hier ein genauer Vergleich beider Stücke in bezug auf ihre Bewegung nur sehr schwer durchzuführen 1. wegen der auch unter normalen Verhältnissen vorherrschenden Trägheit und 2. weil, wie mir scheint, auch das kernhaltige Stück durch die Operation in seiner Beweglichkeit hemmend beeinflußt wird, da ich nachher fast niemals ein lebhafteres Bewegungstempo beobachten konnte. Vielleicht erholt es sich nur sehr langsam und schwer von der Verletzung.

Nach dem Schnitt tritt zunächst an beiden Teilen auf die bekannte Weise durch Invagination der Heilungsprozeß ein, dann bewegen sie sich in der typischen Art der *A. terricola* in weniger lebhaften Bewegungszuständen auf rollende Weise weiter und lassen sich darin meist nicht voneinander unterscheiden. Erst nach

mehreren, in manchen Fällen 8—9 Tagen, machte sich doch ein Unterschied in der Bewegung bemerkbar. Das kernlose Stück stellt seine Beweglichkeit mehr und mehr ein, die Pseudopodien werden kleiner und flacher und das ganze Gebilde ist mehr abgekugelt als das andere. Doch ist auch fernerhin das Bewegungstempo ungleichmäßig, wenn auch keine periodischen Schwankungen, wie sie HOFER (20) bei *A. proteus* beobachtete, wahrzunehmen sind.

Ein Einfluß des Kernes auf die Bewegung ist demnach nicht zu verkennen; doch muß ich wegen der Langsamkeit, mit der er bemerkbar wird, daran zweifeln, daß es ein direkter ist, wie es HOFER (20) bei *A. proteus* wegen des sofortigen Eintretens der Lethargie, wohl annehmen durfte. Vielleicht werden durch das Fehlen des Kernes andere physiologische Funktionen direkt gelähmt bzw. beeinträchtigt, was sich allmählich auch in der Bewegung zu erkennen gibt.

Als ein wesentlicher Faktor scheint bei der Beweglichkeit auch die Größe des betreffenden Stückes mitzusprechen, oder vielleicht auch das Verhältnis seines protoplasmatischen Inhaltes zur Oberfläche. War das kernhaltige Stück das weitaus größere, so schien die schädigende Wirkung der Operation auf die Bewegung ohne Einfluß zu sein, indem es wie die normale Amöbe viel häufiger in lebhaftere Bewegungszustände verfiel. Umgekehrt, das heißt, wenn der kernlose Teil wesentlich an Größe überwog, war der Unterschied in der Beweglichkeit noch später zu bemerken, als bei gleicher Größe beider Teilstücke.

Vollständig unabhängig vom Kerne aber gehen die Invaginationsprozesse bei der Wundheilung vor sich. In jedem Falle reagierte auch die kernlose Hälfte auf eine Verletzung der Pellicula mit sofortiger Invagination und zwar nicht nur gleich nach der Teilung, sondern auch noch am 13. bzw. 24. Tage nachher. Auch in der Dauer dieser Vorgänge war kein Unterschied zwischen beiden Stücken festzustellen.

Dagegen kann ich über den Einfluß des Kernes auf die Lebensdauer keine abschließenden Resultate mitteilen. Nach meinen Versuchen zu urteilen, war sie bei beiden Teilstücken annähernd gleich. Die Fälle, in denen eines das andere überlebte, waren auf beide gleichmäßig verteilt. Um höchstens einen Tag lebte durchschnittlich das kernhaltige länger. Die längste Lebensdauer lag bei beiden zwischen 20—25 Tagen.

Wie bei *A. proteus*, so ist auch hier die Funktion der contractilen Vacuolen durch das Fehlen des Kernes nicht beeinträchtigt.

Doch um daraus auf die ungestörte Excretion und Respiration schließen zu können, müßte erst dieser Vorgang noch sehr eingehend physiologisch-chemisch untersucht werden.

Hofer (20) und auch Stolć (40) haben vor allem die Wirkung des Kernes auf die Verdauung bei *A. proteus* genauer untersucht. Wie schon oben gesagt wurde, benutzten sie dazu die Vitalfärbung. Hofer beobachtete dabei den Färbungsgrad und die Tönung der Nahrungsvacuolen mit Bismarckbraun, die sich bei der normalen Amöbe wie auch bei dem kernhaltigen Stück in regelmäßiger Weise im Laufe der Verdauung veränderten, und bemerkte, daß diese Erscheinung im kernlosen Stück nicht eintrat. Er schließt daraus unter Zuhilfenahme einer Reihe anderer Beobachtungen, daß die Verdauung vom Kern beeinflußt ist. Dieses Ergebnis bekräftigt Stolć durch eine andere Versuchsanordnung. Er untersuchte den Grad und die Dauer der Entfärbung der Nahrungskörper in reinem Wasser nach der Vitaltinktion mit Neutralrot, die bei normalen Amöben, wie auch beim kernhaltigen Stück ziemlich schnell eintritt und wie Stolć schließt, durch die Neubildung von Plasma bei der Verdauung zu erklären ist. Da nun diese Entfärbung beim kernlosen Stück sehr viel langsamer eintritt, so kommt er zu der Überzeugung, daß die Verdauung bzw. die Neubildung von Plasma durch das Fehlen des Kernes gestört ist, was er noch durch andere Beobachtungen, auf die ich hier nicht eingehen kann, zu befestigen sucht.

Leider versagten beide Methoden bei *A. terricola* und es gelang mir nicht, sie durch andere zu ersetzen, so daß ich die Ergebnisse beider Autoren für *A. terricola* nicht bestätigen konnte.

Natürlich lassen sich aus diesen Beobachtungen über das Verhalten der *A. terricola* bei der künstlichen Teilung noch keine Schlüsse ziehen von allgemeiner Bedeutung für die Beziehungen zwischen Kern und Lebensfunktionen der Protozoenzelle. Doch geht vielleicht aus dem Mitgeteilten schon hervor, daß die Amöbe wohl ein in dieser Hinsicht sehr interessantes und zu diesem Zwecke sehr geeignetes Untersuchungsobjekt sein dürfte.

VII. Fortpflanzung.

Obwohl ich von Anfang an mein Augenmerk auf die Fortpflanzungsverhältnisse der *A. terricola* richtete, sind es doch verhältnismäßig wenige Beobachtungen, die ich in dieser Beziehung

mitzuteilen vermag, wie auch schon zu Anfang der Arbeit hervorgehoben wurde.

Was zunächst die einfache Zweiteilung angeht, wie sie als Amitose oder Mitose jetzt von vielen Amöben bekannt ist, so habe ich keine einzige Andeutung für ihr Vorkommen bei *A. terricola* gefunden. Es ist ja bei manchen Amöben sehr schwierig gewesen, sie zu beobachten und genauer zu untersuchen, obschon aus der Vermehrung der Zahl zu schließen war, daß sie stattfand. Aber auch für das letztere habe ich keine Anzeichen finden können und ich möchte glauben, daß sie bei *A. terricola*, wie sie im Moose lebt, außerordentlich selten vorkommt, wenn sie nicht überhaupt fehlt. Denn da die Morphologie und Physiologie des Tieres die lange dauernden Invaginationsvorgänge auch für eine Teilung unvermeidlich macht, so würde sie im Hinblick auf die Biologie und Lebensweise der Amöbe mindestens sehr unzweckmäßig sein. Daß dabei die Invaginationsvorgänge vonnöten sind, erhellt, abgesehen von der Physiologie, aus folgendem Versuch.

Teilt man eine *A. terricola* durch einen Schnitt unvollständig in der Weise, daß noch eine schmale Protoplasmabrücke, deren Inhalt durch Eindringen von Wasser abgetötet ist, die Verbindung zwischen beiden Stücken herstellt, so wird von beiden Teilen aus mit Hilfe einer Invagination die Protoplasmaverbindung mitsamt der Pellicula, ganz ähnlich wie bei der Defäkation, abgeschnürt. Der Vorgang aber dauert sehr lange, bis zu 24 Stunden.

Viel zweckmäßiger ist für die Lebensweise der Amöbe eine Vermehrung durch multiple Kernteilung; und diese kommt auch bestimmt vor. Darauf weisen nicht nur die vielkernigen Erdamöben hin, sondern auch noch ein paar andere Beobachtungen. Und zwar würden sich, wie ich glaube, durch längere, umfangreichere Untersuchungen 2 Arten der multiplen Kernvermehrung und dementsprechend auch 2 verschiedene Fortpflanzungszyklen feststellen lassen. Allerdings kann ich für die eine Art nur sehr wenige und schwache Belege bringen, und hauptsächlich waren es zwei Funde, die mich veranlaßten darauf zu schließen.

Bei der Untersuchung von Moosauswaschungen bei schwacher Vergrößerung fand ich einmal ein Gebilde, welches einer jener aufgequollenen Amöben sehr ähnlich sah; doch schon bei etwas stärkerer Vergrößerung entdeckte ich zu meinem Erstaunen, daß die von der aufgeblähten Pellicula umschlossene Kugel, abgesehen von geringen Mengen zerfallenen Plasmas, mit kleinen kugeligen Gebilden von etwa 30—40 μ Durchmesser angefüllt war (Fig. 18). Eine dünne Hülle

umgab sie nach Art einer Pellicula und in ihrem gekörnelten Plasma zeigten sich deutlich vacuolenartige Einschlüsse. In dem Bestreben, auch über die Kernverhältnisse dieser Plasmakugeln genaueres zu erfahren, konservierte ich das wertvolle Objekt zwecks Färbung, wobei es mir leider verloren ging. Noch ein anderes Mal fand ich ein solches Stadium, doch war hier in ganz ähnlicher Weise, wie das bei den aufgequollenen Amöben schließlich zu geschehen pflegt, die Pellicula geplatzt und auf ihren und des Plasmas zerfallenden Resten hatten sich Bakterien und Pilze angesiedelt. Die kugeligen, plasmatischen Gebilde im Innern aber zeigten das gleiche Aussehen, wie im vorhin beschriebenen Falle, nur waren sie weniger zahlreich und unwesentlich größer (Fig. 19). Trotzdem von einer Pulsation der auch hier deutlich wahrnehmbaren Vacuolen nichts zu erkennen war, machten sie einen sehr lebensfrischen Eindruck; auch schien sich der Inhalt schwach strömend zu bewegen. Diesmal gelang es mir auch, in einigen von ihnen die Kerne in Leben deutlich zu erkennen; sie waren von kugeliger, bläschenförmiger Gestalt und besaßen einen zentralen, runden Nucleolus (Fig. 19 *Nucl*). Was mich aber besonders in der Ansicht bestärkte, daß die Gebilde zu *A. terricola* in Beziehung standen, war eine kleine Amöbe, die etwas weiter vom Mittelpunkte entfernt lag und aus den Plasmakugeln hervorgegangen zu sein schien (Fig. 19 A). Sie hatte die gleiche Größe; ihr Aussehen und die Bewegung aber waren so typisch, daß ich sie in jedem Falle für eine kleine *A. terricola* gehalten hätte, wie ich sie öfter in gleicher Größe und mit demselben bläschenförmigen „*sphaeronucleolus*“-Kern, wie ihn die kugeligen Gebilde hatten, gefunden habe. Greeff (11) hat beobachtet, daß dieser Kern mit wachsender Größe der Amöbe durch Umlagerung des Chromatins an den Polen und Verteilung am Rande der Kernmembran übergeht in den typischen Kern der *A. terricola*, und auch ich habe Andeutungen daran an den Kernen mancher mittelgroßer *A. terricola* gefunden, deren Aussehen sehr an die betr. Greeff'schen Abbildungen (s. Literaturverzeichnis 11 Taf. XVII Fig. 5a—e) erinnerte.

Alle Versuche aber, die kugeligen Gebilde, — deren geringere Anzahl als im vorigen Falle sich vielleicht daraus erklärt, daß schon mehrere Amöben ausgeschlüpft waren —, zur Fortentwicklung zu bewegen, blieben erfolglos, und bei Austrocknungsversuchen gingen sie zugrunde.

Wenn auch vielleicht die Vermutung, daß sie den Endstadien einer Fortpflanzung durch multiple Kernteilung entsprechen, richtig ist, so kann ich doch keine weiteren Beweise dafür erbringen. Auch

konnten mir nur ein paar Beobachtungen einen Hinweis darauf geben, wie sie in diesem Falle vonstatten gehen mag. Ich vermute, wie schon oben gesagt, daß dabei der gewöhnliche Kern der *A. terricola* mit am Rande verteiltem Chromatin (Fig. 1, 4, 5, 6, 7, 8.) in die zur Teilung entschieden geeignetere Gestalt des „*sphaeronucleolus*"-Kernes (Fig. 9) übergeht. Diese Ansicht wurde mir später bestätigt durch die schon erwähnten Befunde von Tönniges an *Pelomyxa palustris*, bei deren Kernen vor jeder Teilung eine derartige Umlagerung des im gewöhnlichen Zustande am Rande verteilten Chromatins stattfand, während nach derselben der umgekehrte Vorgang sich vollzog.

Ein Stadium, welches auf eine solche Art der Kernvermehrung hinzudeuten scheint, war eine sonst typische *A. terricola* mit zwei Kernen, die aber nicht einen, sondern mehrere Nucleoli von dem vacuolären Bau des Binnenkörpers des „*sphaeronucleolus*"-Kernes enthielten, die aber an Größe verschieden waren (Fig. 20). Die Mehrzahl der Nucleoli erklärt sich vielleicht durch die erwähnten Umlagerungsprozesse. Auch Greeff (11) beschreibt ganz kurz eine zweikernige Amöbe; doch scheinen bei ihr die Kerne das gewöhnliche Aussehen gehabt zu haben.

Die meisten vielkernigen Formen, die ich beobachtete, kann ich nicht zur Bestätigung dieser Art der Fortpflanzung heranziehen, denn ihre Kerne waren viel zu zahlreich, als sich aus der Anzahl der kugeligen Gebilde ergeben müßte. Unter dem Namen *A. alba* beschreiben Greeff (13) und Penard (27) eine vielkernige Erdamöbe, deren Nuclei sich, abgesehen von ihrem größeren Durchmesser, dadurch von den Kernen der *A. fibrillosa* unterscheiden, daß sie nicht wie diese nur 1—2 Nucleoli enthalten, sondern mehrere, bis zu 20. Solche Amöben aber habe ich nie gefunden, wenn die zweikernige Amöbe nicht mitgerechnet wird, und es wäre vielleicht zu vermuten, daß sie in der Teilung weiter fortgeschrittene Stadien dieser Art der Kernvermehrung darstellen, wenn dem nicht die nach Penard (27) sehr große Zahl (100 und mehr) der Kerne entgegen stünde.

Hat die Anzahl der Kerne durch die multiple Teilung eine gewisse Größe erreicht, so umgeben sie sich wahrscheinlich mit Plasma und dieses mit einer Pellicula, worauf dann diese Gebilde als die oben beschriebenen Plasmakugeln in der abgestorbenen oder aufgequollenen Amöbe zu erkennen sind, aus denen dann, wie zu erwarten steht, die jungen typischen *A. terricola* hervorgehen.

Entsprechen diese Vermutungen der Wirklichkeit, so würde die beschriebene Art der Fortpflanzung, also der multiplen, ungeschlecht-

lichen Vermehrung durch fortgesetzte Kernteilung entsprechen, wie sie jetzt bei manchen Amöben u. a. *A. proteus* (SCHEEL 37) bekannt ist, die allerdings in diesen Fällen unter Encystierung vor sich geht.

Durch die der GREEFF'schen *A. fibrillosa* (Fig. 2) entsprechenden vielkernigen Erdamöben aber scheint mir eine andere Art der Fortpflanzung repräsentiert zu sein; dies vor allem wegen der großen Anzahl der Kerne, die oft 100 übersteigt und der vermutlichen Endstadien dieser Art der Kernvermehrung.

Die schon weiter oben beschriebenen Kerne (Fig 2 N) sind im Ruhezustand kugelig bis ovoid und besitzen dann einen kompakten stark färbbaren Nucleolus, der meist in der Mitte (Fig. 22 a, 14), doch nicht selten an dem einen Pole des Kernes liegt, (Fig. 21) und in dem oft eine kleine helle Vacuole zu erkennen ist, über deren Bedeutung ich jedoch nichts aussagen kann. Teilungsfiguren sind nicht selten, und in einem Präparate waren sie so zahlreich und gut zu erkennen, daß ich die Kernteilung in fast all' ihren Phasen verfolgen konnte. Der im Ruhezustand kugelige Nucleolus (Fig. 22 a) streckt sich dabei zunächst etwas in die Länge (Fig. 22 b), schnürt sich aber dann schon bald durch, so daß nur ein kurzer dünner Chromatinfaden die erst wenig getrennten Teilstücke verbindet (Fig. 22 e). Schon auf diesem Stadium ist zwischen beiden neu entstandenen Chromatinballen eine kleine, schwach gefärbte Verbindungszone zu erkennen (Fig. 22 c); diese tritt immer deutlicher beim Auseinanderrücken der Tochternucleoli hervor. Mit Hilfe guter Immersionen und starken Vergrößerungen (1000) war darin eine fädige Struktur zu erkennen (Fig. 22 d, e, f, g), doch gelang es mir nicht die Anzahl der Fasern dieser primitiven Spindel zu bestimmen, meistens aber glaubte ich, 3—4 deutlich zu erkennen. Immer weiter rücken nun die beiden Teile des Nucleolus an die Pole des sich immer mehr in die Länge streckenden Kernes und ist die Teilung soweit vollzogen, so erscheint die faserige Verbindungszone wieder zu verschwinden (Fig. 22 h). Nunmehr aber geht wohl auch der Kern in Teilung über, indem sich in der Mitte eine Scheidewand bildet. Da ich aber nur ein solches Stadium fand (Fig. 22 i), so gelang es mir leider nicht, die Art und Weise ihrer Bildung genauer zu beobachten.

Es liegt also hier ein Teilungsmodus vor, der stark an die ersten Stadien, des von VAHLKAMPF (41) beschriebenen ersten Teilungstypus der *A. limax* erinnert und auch einer von TÖNNIGES bei *Pelomyxa palustris* beobachteten Kernteilung sehr ähnlich sieht. Er entspricht im allgemeinen jenen Teilungsformen mit Nucleolo-

Centrosoma, wie sie vor allem von *A. limax* (VAHLKAMPF 41) und *Euglena vir.* bekannt ist und von GOLDSCHMIDT (10) und POPOFF (10) von dem Gesichtspunkte der Chromidialtheorie und Doppelkernigkeit der Protozoenzelle aus mit anderen meist komplizierteren Mitosen verglichen worden sind. Die Teilung verläuft aber insofern einfacher, als die Funktion des Nucleolus als Nucleolo-Centrosoma wegen der Spindelbildung zwar zu erkennen, eine Sonderung des Chromatins in ein solches und Chromosome bzw. Tochterplatten jedoch nicht wahrzunehmen ist. Ein paarmal fand ich sonderbare Amöben, die das Endstadium dieser Art Kernvermehrung darzustellen schienen. Sie waren fast vollständig mit Kernen angefüllt, so daß nur noch wenig vom Ecto- und Entoplasma zu sehen war (Fig. 23). Ihre Bewegung war sehr schwach und erlahmte schließlich vollständig. Während so die Amöbe abstarb, traten die kernartigen Gebilde im Innern nur noch deutlicher hervor und schienen wie von einer festen, stark lichtbrechenden und stark reflektierenden Hülle umgeben, die einen Einblick in diese überdies sehr kleinen Gebilde verwehrte. Auch bei einer vielkernigen Amöbe, die nach zwei Monaten abstarb, konnte ich dieselbe Erscheinung beobachten. Noch wochenlang blieben die kleinen, wie minimale Cysten aussehenden Gebilde unverändert sichtbar (Fig. 24) und widerstanden auch allen Austrocknungsversuchen, konnten jedoch nicht zur Weiterentwicklung gebracht werden. Leider gestattete die jeden Einblick ins Innere verwehrende Hülle nicht, festzustellen, ob noch geringe Plasmamengen mit eingeschlossen waren.

Über die Entstehung dieser Nuclei aus dem gewöhnlichen Kern der *A. terricola* vermag ich keine Beobachtungen anzuführen. Nach GREEFF (11) sollen sie durch Bildung von Keimkugeln im Nucleus entstehen, die dann wohl ins Plasma und dann nach einiger Zeit aus der Amöbe ins Wasser ausgestoßen werden, wo bald die jungen *A. terricola* aus ihnen hervorgehen sollen. Doch hat GREEFF niemals die Ausstoßung der Keimkugeln aus dem Kerne und aus der Amöbe, sowie die Umwandlung in kleine Amöben beobachten können. Auch ist es sehr zweifelhaft, ob die kleinen Amöben, die er als ganz junge Stadien von *A. terricola* abbildet und beschreibt, wirklich zu ihr in Beziehung stehen, denn bei der großen Anzahl kleiner Amöben, die sich in Moosaufgüssen allmählich einstellen, kann da leicht ein Irrtum unterlaufen. Erst die späteren Stadien, die er abbildet, scheinen, wie auch oben schon bemerkt, wirklich junge *A. terricola* zu sein.

Ob nun tatsächlich die Nuclei einer Ausstoßung von Chromatin

aus dem Kern ihre Entstehung verdanken, sei es durch direkte Umwandlung von gleichartigen Chromatinbrocken, wie nach Greeff's (11) Ansicht, oder auf die Weise, wie es Bott (1) von manchen Kernen der *Pelomyxa pal.* beschreibt, oder auch durch Differenzierung aus einem sich zunächst bildenden Chromidium bzw. Sporetium (Goldschmidt (8) und sich dann noch verschiedentlich teilen, konnte auch ich nicht beweisen. Vielleicht deutet die Anordnung des Chromatins am Rande der Kernmembran auf eine solche Art der Vermehrung hin. Entspräche die Entstehung der Kerne aus einem auf diese Weise entstehenden Chromidium tatsächlich der Wirklichkeit, so wären sie mit den auf gleiche Weise entstehenden Gametenkernen der Geschlechtsgenerationen vieler Foraminiferen und einiger Amöben zu vergleichen, wie sie uns vor allem durch Schaudinn (35, 36) bei *Polystomella, Chlamydophris, Arcella, Centropyxis, Amoeba coli* u. a. und neuerdings noch für zwei Mastigamöben durch Goldschmidt (9) bekannt geworden sind.

Ob nun wirklich aus dem in Fig. 24 dargestellten Gebilde die Sporen bzw. Fortpflanzungskomponenten der *A. terricola* hervorgehen, konnte ich nicht erweisen. Wegen ihres cystenartigen Aussehens und Verhaltens aber wäre es vielleicht zu vermuten.

Einen besonderen Beweis für die Zugehörigkeit der vielkernigen Erdamöben zu *A. terricola* vermag ich übrigens in der Art ihres Auftretens zu erblicken. Während sie sonst sehr selten und höchstens in der Einzahl unter einer Ernte einkerniger Amöben zu finden waren, traten sie ein paarmal in Moos, das der gewöhnlichen Stelle entnommen war, in außerordentlich großer Anzahl auf, und diesmal waren nie einkernige Amöben zu finden. In dem am anderen Tage geholten Moose aber waren sie schon weniger zahlreich und bald gar keine mehr vorhanden; aber auch die einkernigen Amöben blieben aus und ich mußte das Moos von einer anderen Stelle holen.

Diese Erscheinung aber deutet auf eine Fortpflanzung hin und es stände zu vermuten, daß sie so oder ähnlich verläuft, wie in der oben beschriebenen Weise, und da die dabei entstehende Generation sehr klein ist, so wäre sie leicht zu übersehen. Aber es spielt dabei noch ein Umstand mit, den ich nicht übergehen darf. Dieses Auftreten der vielkernigen Amöben fand nämlich statt beim Eintritt einer Feuchtigkeitsperiode in der Witterung, die anhaltende dichte Nebel und starke Niederschläge mit sich brachte, und es läge die Vermutung sehr nahe, daß eine solche länger dauernde starke Befeuchtung wie bei vielen niederen Pflanzen, so auch bei *A. terricola* eine geschlechtliche Fortpflanzung bzw. Schwärmerbildung ermög-

licht und hier vielleicht sogar eine solche auslöst. Durch den Regen würden die Endprodukte der Kernvermehrung in kleine Pfützen fortgeschwemmt und ihnen dort zum Ausschwärmen und zur Copulation Gelegenheit geboten, wodurch auch die Annahme einer wasserlebenden, sich nach Art der *A. verrucosa* (Gruber 16) durch Zweiteilung fortpflanzende Generation von *A. terricola* an Wahrscheinlichkeit gewänne.

Natürlich sind dies nur Vermutungen, deren Möglichkeit aber nicht ausgeschlossen ist.

Jedenfalls geht wohl schon aus dem Gesagten hervor, daß gerade die Aufklärung der Fortpflanzungsverhältnisse bei *A. terricola* noch manches Neue und Interessante, vor allem auch im Hinblick auf die Biologie dieser Erscheinungen zutage fördern würde.

Zum Schlusse möchte ich Herrn Prof. Korschelt für die Anregung zu der Arbeit und für sein beständiges, freundliches Interesse, welches er ihr entgegengebracht hat, sowie auch Herrn Dr. Tönniges für seine guten Ratschläge und Herrn Prof. Meisenheimer meinen herzlichsten Dank aussprechen.

Literaturverzeichnis.

1) Bott, K.: Über die Fortpflanzung von *Pelomyxa palustris*. Arch. f. Protistenk. Bd. VIII 1907.
2) Bütschli, O.: Protozoen. Bronn's Klass. u. Ordn. d. Tierreichs. Leipzig u. Heidelberg (Winter) 1880—82.
3) —: Untersuchungen über mikroskopische Schäume und das Protoplasma. Leipzig 1892.
4) Carter: Notes on freshwater Infusories of the Island of Bombay. Annals and Magaz. of Nat. Hist. 3. ser. Bd. XIII, XV.
5) Doflein, F.: Studien über die Naturgeschichte der Protozoen. V. Amöbenstudien I. Arch. f. Protistenk. Suppl.-Band I 1907.
6) Dujardin, M. F.: Notes sur les Infusoires vivantes dans les mousses. Annal. d. Sciences. Nat. Zool. III. Serie 1852.
7) Ehrenberg: Die Infusionstierchen als vollkommene Organismen. Leipzig (Voß) 1838.
8) Goldschmidt, R.: Die Chromidien der Protozoen. Arch. f. Protistenk. Bd. V 1905.
9) —: Lebensgeschichte der Mastigamöben *Mastigella vitrea* n. sp. und *Mastigina setosa* n. sp. Ibid. Suppl.-Bd. I 1907.
10) Goldschmidt u. Popoff, M.: Die Caryokinese der Protozoen und der Chromidialapparat der Protozoen- und Metazoenzelle. Ibid. Bd. VIII 1907.
11) Greeff, R.: Über einige in der Erde lebende Amöben und andere Rhizopoden. Arch. f. mikr. Anat. Bd. II 1866.
12) —: Über den Organismus der Amöben. Biolog. Centralbl. XI Nr. 19.
13) —: Über die Erdamöben. Sitzber. d. Ges. z. Beförd. d. ges. Naturw. z. Marburg H. 1 1891.
14) —: Studien über Amöben. Ibid. H. 2 1888 und H. 1 1892.
15) Gruber, A.: Amöbenstudien. Ber. d. Naturf. Ges. Freiburg i. B. Bd. VIII 1894.
16) —: Studien über Amöben. Leipzig (Engelmann) 1884.
17) Hartmann, M. u. Nägler, K.: Copulation bei *Amoeba diploidea* n. sp. mit Selbständigbleiben der Gametenkerne während der ganzen Lebenszeit. Sitzber. d. Ges. Naturf. Freunde Berlin Nr. 4 1908.
18) Heinis: Beitrag zur Kenntnis der Moosfauna der Kanarischen Inseln. Zool. Anz. Bd. XXXIII 1908.
19) Hertwig, R.: Über die physiologische Degeneration bei *Actinosphaerium Eichhorni*. Festschrift für E. Haeckel.
20) Hofer, B.: Experimentelle Untersuchungen über den Einfluß des Kerns auf das Protoplasma. Jena, G. Fischer 1889.
21) Leidy: Rhizopods of the mosses of Roan Mountain. Proceed. of the Acad. of Philadelphia 1880.
22) —: Freshwater Rhizopods of North America. Report of the Geolog. Survey of the Territor. Vol. XII Washington 1879.
23) Maggi, L.: Sur les protoz. vivantes sur les mousses d. plantes. Arch. ital. Biol. T. 10.

24) Mereschkowsky: Studien über Protozoen des nördlichen Rußlands. Arch. f. mikr. Anat. Bd. XVI 1879.

25) Neresheimer: Über vegetative Kernveränderungen bei *Amoeba Dofleini*. Arch. f. Protistenk. Bd. VI 1905.

26) Penard, E.: Faune Rhizop. d. Bassin de Léman. Kündig Genf 1902.

27) —: Observ. sur les amibes à pellicule. Arch. f. Protistenk. Bd. VI 1905.

28) —: Sur la décharge d. l. vésic. contract. de l'*A. terric.* Revue Suisse Zool. Tome 12.

29) —: Not. sur les Rhizop. du Spitzberg. Arch. f. Protistenk. Bd. II 1903.

30) Perty: Zur Kenntnis kleinster Lebensformen in der Schweiz. Bern 1852.

31) Prandtl, H.: Die physiologische Degeneration von *Amoeba proteus*. Arch. f. Protistenk. Bd. VIII 1907.

32) Przesmycki: Sitzber. d. Ges. f. Morphol. u. Physiol. München Heft I 1899.

33) Rhumbler, L.: Physikalische Analyse von Lebenserscheinungen in der Zelle. Arch. f. Entwicklungsmech. Bd. VII 1898.

34) Richters: Die Fauna des Moosrasens des Gausberges und einiger südlicher Inseln. Deutsche Südpolar-Expedition 1901—03 Bd. IX Zool. I.

35) Schaudinn: Untersuchungen über die Fortpflanzung einiger Rhizopoden. Arb. aus d. Kaiserl. Gesundheitsamt Bd. XIX H. 3.

36) —: Über den Zeugungskreis von *Paramoeba eilhardi* nov. gen., nov. sp. Sitz.-Ber. d. Kgl. Preuß. Akad. d. Wissensch. z. Berlin 1896 II.

37) Scheel: Beitrag zur Fortpflanzung der Amöben. Festschr. f. K. v. Kupffer Jena 1899.

38) Schubotz, N.: Beitrag zur Kenntnis der *Amoeba blattae* Bütschli und *Amoeba proteus* Pall. Arch. f. Protistenk. Bd. VI 1905.

39) Scourfield: Freshwater Rhizopods from Spitzbergen. Proc. Zool. Society 1897 London.

40) Stolć: Über das Verhalten des Neutralrotes im lebenden Protoplasma nach Versuchen mit *Amoeba proteus*. Zeitschr. f. allgem. Phys. Bd. I 1902.

41) Vahlkampf: Beitrag zur Biologie und Entwicklungsgeschichte von *Amoeba limax* einschließlich der Züchtung auf künstlichem Nährboden. Arch. f. Protistenk. Bd. V 1905.

Tafelerklärung.

Tafel XI.

Fig 1. Schnitt durch *Amoeba terricola* Greeff mit Kern (*Nucl*) und contractiler Vacuole (*C. V.*). *Ent* = Entoplasma, *Ect* = Ectoplasma, *Pell* = Pellicula. Färbung: Methylenblau und Orcëin. Leitz 2 mm Öl-Imm. Apochr., Ok. 3.

Fig. 2. Schnitt durch einen Teil von einer vielkernigen Erdamöbe (*N* = Kerne). Färbung: Pikrokarmin. Leitz Obj. 7 a, Ok. 3.

Fig. 3. Anordnung der Granulationen in unregelmäßigen Vielecken, deutlich zu sehen über einer contractilen Vacuole Hinw. a. d. schaumig. gröb. Bau d. Entopl. Im Leben gez. Leitz Obj. 7, Ok. 3.

Fig. 4. Typischer Kern v. *A. terricola* mit am Rande verteilten größeren Chromatinbrocken. Färbung: Pikrok. Totalp. Leitz 2 mm Öl-Imm. Apochr., Ok. 3.

Fig. 5. Dsgl. Chromatinbrocken sind in kleinere zerfallen und wandern teilw. ins Innere des Nucleus. Pikrok. Totalpr. Leitz 2 mm Öl-Imm. Apochr., Ok. 3.

Fig. 6. Dsgl. (Schnitt) stärkerer Zerfall des Chromatins. Pikrok. Vergr. dies.

Fig. 7, 8. Diffuse Verteilung der kleinen Chromatinbröckchen. Pikrok. Totalpr., Vergr. dies.

Fig. 9. Kern d. „*A. sphaeronucleolus*" Greeff mit zentralem Nucleolus von vacuolärem Bau. Pikrok. Totalpr., Vergr. dies.

Fig. 10. Ein Kern einer vielkernigen Erdamöbe. Chromatin in Form eines kompakten Nucleolus im Zentrum. Schnitt. Pikrok. Leitz 2 mm Öl-Imm. Apochr., Comp.-Ok. 12.

Fig. 11. *A. terricola* nach Art der *A. limax* in lebhaft fließender Bewegung mit schopfartigem Hinterende. Im Leben gez. Leitz Obj. 5, Ok. 1.

Fig. 12. Sonderbare dreistrahlige Bewegungsformen der *A. terricola*. Im Leben gez. Leitz Obj. 5, Ok. 3.

Tafel XII.

Fig. 13. *A. terricola*, eine *Euglypha* durch Invagination in sich aufnehmend. Im Leben gez. *C. V.* = Contr. Vak. *Nucl* = Kern. Leitz Obj. 5, Ok. 1.

Fig. 14. *A. terricola*, eine andere Amöbe (?) durch Invagination in sich hineinziehend. Im Leben gez. Leitz Obj. 5, Ok. 1.

Fig. 15. Stark lichtbrechende Tröpfchen im Entoplasma d. *A. terricola* nach der Vitalfärbung mit Neutralrot. Im Leben gez. Leitz Obj. 5, Ok. 4.

Fig. 16. Dieselben stark lichtbrechenden Tröpfchen ungefärbt. *Tr.* = Tröpfchen *C. V.* = Contr. Vak. Anfangsstadium einer Defäkation; vgl. Textfig. J 2, 3. Im Leben gez. Leitz Obj. 5, Ok. 1.

Fig. 17. Bildung einer außerordentlich großen Defäkationsblase. Im Innern Invaginationskanal mit gefälteltem Ende. Im Leben gez. Leitz Obj. 5, Ok. 1.

Fig. 18. Fortpflanzungsstadium s. pag. 94—95. Im Leben gez. Leitz Obj. 5, Ok. 3.

Fig. 19. Fortpflanzungsstadium, die Pelliculahülle ist geplatzt. Die kugeligen Gebilde lassen Nuclei erkennen (*Nucl*). Oben eine ausgekrochene (?) *A. terricola* (*A*). Im Leben gez. Leitz Obj. 7, Ok. 1.

Fig. 20. *A. terricola* mit 2 Kernen. In jedem sind mehrere verschieden große Nucleoli zu erkennen von vacuolärem Bau. Der übrige Kerninhalt ist gekörnelt. Totalpr. Hämatox. DELAF. LEITZ 2 mm Öl-Imm. Apochr., Ok. 3.

Fig. 21. Kern einer vielkernigen Erdamöbe des Nucleolus mit einer kleinen hellen Vacuole an dem einen Pole des Nucleus gelegen. Pikrok. Totalpr. LEITZ Öl-Imm. Apochr., Comp.-Ok. 12.

Fig. 22a—i. Teilung eines Kernes einer vielkernigen Erdamöbe, mit Hilfe einer primitiven Mitose, s. pag. 100—102. Pikrok. Totalpr. LEITZ 2 mm Öl-Imm. Apochr., Ok. 4.

Fig. 23. *A. terricola* vollständig mit Kernen erfüllt fast ohne Bewegung, s. pag. 102. Im Leben gez. LEITZ Obj. 5, Ok. 1.

Fig. 24. Kerne einer vielkernigen Erdamöbe nach dem Austrocknen. Sie erscheinen wie von einer Hülle umgeben. LEITZ Obj. 7a, Ok. 5.

Tafel XIII.

Fig. 25. Vitaldoppelfärbung mit Auramin und Methylenblau. Pellicula violett. Nahrungsvacuolen gelb. Im Innern Nahrungskörper aufgenommen durch unvollständige Umfließung, s. pag. 58. Im Leben gez. LEITZ Obj. 5, Ok. 1.

Fig. 26. Endstadium einer Defäkation mit mehreren Defäkationsblasen. Im Leben bei Zentralblende gez. LEITZ Obj. 5, Ok. 1.

Fig. 27. *A. terricola* am Hypnumblättchen entlang kriechend. Im Leben bei Zentralblende gez. LEITZ Obj. 3, Ok. 5.

Sur quelques Rhizopodes des Mousses.

Par
E. Penard.

(Avec 36 figures dans le texte.)

Les Sarcodinés d'eau douce prospèrent sous tous les climats, et sont, dans leur généralité, représentés partout par les mêmes espèces; mais à une condition cependant: c'est que, partout aussi, ils trouvent le milieu qui leur est favorable; pour les uns, ce sera l'eau claire et profonde des lacs, pour les autres les mares ou les étangs, la boue noire au fond des fossés, ou même le voisinage de matières en décomposition. Ces différents „terrains" fournissent ainsi des faunes spéciales, dont la plus riche est peut-être, non pas comme on pourrait le croire celle des eaux libres, mais bien celle des tourbières à *Sphagnum*.

Mais à côté de cette faune si riche des sphaignes toujours mouillées, il en existe une autre, beaucoup moins connue encore, celle des mousses proprement dites, qui garnissent les vieux murs, les troncs d'arbres, ou qu'on trouve au bord des haies et dans les forêts.

Elle aussi, cette faune a des exigences particulières et revêt des caractères spéciaux; obligés de passer constamment et pour ainsi dire d'un jour à l'autre par des alternatives de sécheresse et d'humidité, à la merci d'une ondée ou d'un coup de soleil, les organismes qui la composent ont été l'objet d'adaptations variées, et qui toutes en définitive ont pour but de s'opposer à une évaporation trop rapide de l'eau qui pénètre leur plasma.

C'est à l'étude de quelques-uns de ces Rhizopodes des mousses que sont consacrées les lignes qui vont suivre; mais avant d'entrer plus complétement dans le sujet, il ne sera pas inutile d'en faire brièvement l'historique, et de citer les auteurs, peu nombreux d'ailleurs, qui se sont occupés de ces Protistes tout particuliers.[1])

Ehrenberg, en 1838 (1) [2]) décrivait son *Amoeba verrucosa*, à laquelle différents auteurs ont assimilé et assimilent encore l'*Amoeba terricola* de Greeff (5); nous aurions donc là la première en date de ces „amibes pelliculeuses“ tout particulièrement adaptées à la vie dans les mousses.

Mais ces auteurs ont-ils bien raison? ces deux amibes sont-elles identiques en réalité?

La description de Ehrenberg (p. 126, pl. 8 fig. 11) est la suivante: „Amibe verruqueuse, (étendue), petite, ne surpassant pas $^1/_{10}$ de millimètre, hyaline, paresseuse, ayant des appendices variables obtus et très petits en forme de verrue.“ Plus loin l'auteur ajoute: „Ich habe es im Januar 1835 in einem überwinterten Gefäße mit Micrasterien in großer Menge beobachtet.“

Ces quelques lignes, it faut l'avouer, pourraient s'appliquer à plus d'une amibe, et correspondraient à une amibe aquatique plutôt qu'à celle que Greeff a trouvée plus tard dans les mousses. Les quatre figures données par Ehrenberg sont, il est vrai, plus significatives, et montrent en effet quelque chose qui rappelle l'amibe de Greeff; mais rien n'est moins certain encore, et Greeff, à mon avis, était en tout cas fondé à reconnaître dans l'amibe qu'il venait de trouver, autre chose que l'*Amoeba verrucosa*.

Mais Greeff n'a-t-il pas, lui aussi, commis une erreur, d'une autre nature alors, en donnant son *Amoeba terricola* comme un organisme nouveau pour la science?

En 1852, Dujardin, dans sa „Note sur les Infusoires vivant dans les mousses“, avait décrit (2, p. 240) „une sorte d'Amibe très-remarquable, en raison de son tégument membraneux qui se plisse dans diverses directions, suivant les mouvements et les contractions

[1]) Cet historique n'a nullement la prétention d'être complet; sans doute des recherches bibliographiques approfondies m'auraient-elles permis de traiter le sujet plus à fond, mais ces recherches m'eussent été difficiles, et ne seraient d'ailleurs guère rentrées dans le cadre que je me proposais. On trouvera quelques citations de plus dans le travail de Maggi (9).

[2]) Ces chiffres entre parenthèses correspondent à la liste bibliographique qui termine ce mémoire.

de l'animal, et qui souvent même présente l'apparence d'un linge tordu quand l'animal a tourné sur lui-même.

„Cet Infusoire devra donc former un genre distinct dans la famille des Amibiens, et l'on pourra le nommer *Corycie* (de κωρύκιον, un petit sac), pour exprimer le caractère distinctif de cette enveloppe membraneuse qui se plisse et se vide à mesure que l'animal est plus exposé à l'air, et qui le préserve d'une dessication complète. Il peut donc, comme les Rhizopodes des Mousses (*Arcelles, Difflugies et Englyphes*), éprouver sans périr des alternatives de sécheresse et d'humidité, comme je l'ai constaté sous le microscope, tandis que les Amibes proprement dits et les autres Infusoires nus ne vivent que pendant la durée de la période d'humidité.

„L'enveloppe membraneuse, quoique parfaitement extensible et élastique, reste flottante sur les côtés, et persiste longtemps quand, avec des aiguilles, on déchire, sous le microscope, la Corycie, dont les portions sarcodiques se contractent en lobes arrondis et se creusent bientôt de vacuoles confluentes.

„Les dimensions de cet Infusoire dans tous les sens varient de 8 à 20 centièmes de millimètre, et comme ses mouvements sont très-lents, on le prendrait aisément pour un petit fragment irrégulier de quartz, si la réfringence n'était beaucoup plus faible que pour ce minéral.“

Qu'est-ce alors que cette *Corycie?* Gagliardi, en 1871 (6), la regarde comme probablement identique à l'*Amoeba terricola* de Greeff, mais en même temps à l'*Amphizonella flava* du même auteur, et en fait la *Corycia Dujardini.*

En 1888 (9) Maggi cite cette *Corycia Dujardini*, lui constatant une parenté très-rapprochée avec l'*Amphizonella flava*, mais il n'ose se prononcer. Depuis ce temps, la *Corycie* est de plus en plus négligée, on n'en parle plus, on en oublie jusqu'au nom.

En 1902 cependant, moi-même (12, p. 172), assimilant la *Corycie* de Dujardin à l'*Amphizonella flava* que je venais de retrouver, je crus devoir, en égard aux lois de la nomenclature et au travail de Greeff antérieur à celui de Gagliardi, changer le nom de cette Amphizonelle en celui de *Corycia flava* (Dujardin)!

Et pourtant, j'en suis persuadé aujourd'hui, j'étais dans l'erreur à mon tour; l'*Amphizonella* de Greeff n'a rien à faire avec la *Corycie* de Dujardin! Le fait principal sur lequel je m'étais fondé pour assimiler l'un à l'autre ces deux organismes (et en l'absence de toute figure qui pût éclairer la question), c'était l'existence de cette enveloppe „qui reste flottante sur les côtés“, et qui me semblait ne

pouvoir se rapporter qu'au sac largement ouvert de l'*Amphizonella flava*; mais je n'avais pas suffisamment porté mon attention sur le reste de la phrase: „quand, avec des aiguilles, on déchire la Corycie".

Donc, l'enveloppe de la *Corycie* (de Dujardin) n'était ouverte que parce qu'on l'avait déchirée; normalement, elle restait fermée de toutes parts, ce qui est le fait de l'*Amoeba terricola* de Greeff; Dujardin, également, ne parle pas de coloration jaune (si caractéristique dans l'*Amphizonella flava*), il dit de sa „Corycie" qu'on la prendrait aisément pour un petit fragment de quartz; il cite une taille allant jusqu'à 200 μ, etc.; tout enfin dans sa description montre l'*Amoeba terricola*, et ne peut se rapporter à l'*Amphizonella flava*, en forme de sac largement ouvert, atteignant 100 μ dans les gros individus seulement.

En résumé, la *Corycie* de Dujardin ne doit pas être autre chose que ce rhizopode qui fut plus tard décrit par Greeff sous le nom de *Amoeba terricola*. D'après les lois actuelles de la nomenclature, ce dernier nom devrait alors disparaître, être remplacé par exemple par celui de *Corycia terricola* (Dujardin); sous certains rapports, ce serait là un fait à désirer, car il nous permettrait d'adopter pour toutes les amibes à pellicule, les amibes des mousses, un nom générique qui les sortirait de l'encombrement des Amibes vraies; mais peut-être vaut-il mieux laisser les choses dans l'état actuel; le genre *Corycia*, adopté aujourd'hui pour l'ancienne *Amphizonella flava* de Greeff comme pour au moins trois autres espèces du même type, semble avoir acquis une position solide; et quant à l'*Amoeba terricola* de Greeff, elle est si bien connue et a donné lieu à tant de travaux, qu'il serait imprudent de lui enlever son nom; tout au plus, me semble-t-il, devrait-on changer les noms des parrains, et écrire: *Amoeba terricola* (Dujardin) au lieu de *A. terricola* Greeff, et dire par contre: *Corycia flava* (Greeff) au lieu de *C. flava* (Dujardin).

Si j'ai insisté un peu longuement sur cette „*Corycie*", c'est que nous avons en elle, dans une description très-nette pour l'époque et qui témoigne de la part du naturaliste français d'un remarquable talent d'observation, le premier en date de ces Rhizopodes, si curieux dans leur structure comme dans leurs fonctions, qui constituent le groupe des amibes à pellicule.

Après ce travail de Dujardin, et si l'on fait abstraction de quelques remarques accidentelles de Ehrenberg, de Perty, et de quelques autres observateurs, nous n'entendons plus parler des Rhizopodes des mousses jusqu'en 1866, date à laquelle Greeff fit paraître son important travail „Über die in der Erde lebenden Amöben und

andere Rhizopoden" (5). Nous trouvons là décrite toute une série d'espèces caractéristiques, tout d'abord cette *Amoeba terricola* dans laquelle nous venons de reconnaître l'ancienne *Corycie* de Dujardin, puis ce curieux organisme que Greeff croit devoir joindre „provisoirement" au genre *Amphizonella* (*A. flava*) et qui actuellement est connu sous le nom de *Corycia flava;* enfin d'autres espèces typiques, comme *Amphizonella violacea*, *Amphiz. digitata*, et l'*Arcella arenaria* toujours si fréquente dans les mousses.

En 1888, après un intervalle de plus de vingt ans pendant lequel on ne trouve guère, concernant les organismes qui nous occupent, que deux petits travaux sans portée spéciale de Gagliardi (6) et de Ehrenberg (7), Greeff (8) reprenait la question, et nous faisait connaître, dans des descriptions malheureusement trop courtes et sans figures explicatives, plusieurs types nouveaux, entr'autres *Assulina muscorum*, *Pseudochlamys aculeata* (aujourd'hui *Corycia aculeata*) et *Diplochlamys Leidyi*, ce premier représentant du genre *Diplochlamys* dont nous aurons plus loin à nous occuper tout au long.

Dans cette même année 1888, Maggi (9) publiait son travail intitulé: „Intorno ai Protozoi viventi sui Muschi delle piante", où il consacre quelques pages à la „*Corycia Dujardinii*, Gagliardi", et décrit plusieurs rhizopodes nouveaux, mais qui n'ont guère soutenu l'épreuve du temps; d'abord quelques petites amibes que ni la diagnose ni les figures ne permettront jamais de reconnaître, puis un *Hyalodiscus hyalinus* dont on ne sait trop que faire, une *Euglypha zonata* qui probablement n'est autre chose qu'une des variétés de l'*Euglypha compressa* de Carter, et une *Arcella aureola* dans laquelle on peut sans difficulté reconnaître l'*Arcella arenaria* décrite précidemment par Greeff.[1])

En 1891, c'est encore Greeff qui nous fournit un travail important (10), dans lequel il étudie les Amibes terrestres, examine à nouveau son *Amoeba terricola*, et décrit quatre nouvelles espèces, *A. similis*, *A. sphaeronucleolus*, *A. fibrillosa*, et *A. alba*, qui toutes rentrent dans ce groupe des Amibes à pellicule auquel, beaucoup plus tard, moi-même je devais joindre une sixième espèce, *A. papyracea* (14).

[1]) On ne peut guère reprocher à Maggi d'avoir ignoré le travail de Greeff de 1866, comme aussi celui de 1888, paru d'ailleurs la même année que celui de Maggi; le dernier surtout est très-peu connu, et pour mon compte, ce n'est que tout récemment que je l'ai eu entre les mains: à mon tour, j'ai regretté de l'avoir négligé. Mon *Arcella microstoma* (1890) n'est autre chose que cette *Arcella arenaria* de Greeff; mon *Assulina minor* (1890) est en fait l'*Assulina muscorum*, et ma *Corycia coronata* correspond également à la *Pseudochlamys aculeata* de Greeff.

A partir de 1891, presque tous les travaux sur le sujet qui nous occupe ne sont plus guère qu'une énumération des espèces rapportées par les voyageurs, et surtout des régions arctiques. Dans ces contrées, où le trait dominant du paysage végétal est donné surtout par les tapis de mousses presque toujours humides, on trouve une faune microscopique très-riche. C'est ainsi que les mousses du Spitzberg ont fourni 45 Rhizopodes (Scourfield [11] 21 espèces en 1897, Penard [13] 45 espèces en 1903), dont beaucoup, dans nos pays, sont plutôt caractéristiques des tourbières à *Sphagnum*, et cela malgré l'absence (absolue?) des *Sphagnum* au Spitzberg. Awerinzew (15) donne à son tour une liste de 11 espèces récoltées à l'Ile aux Ours (Beeren-Eyland, entre la Laponie et le Spitzberg, et en cite 17 de l'île Waigatsch (16).[1])

[1]) Ces 17 rhizopodes n'ont d'ailleurs pas tous été récoltés dans les mousses; l'auteur décrit par exemple une *Schaudinnula arcelloides* nov. gen. nov. sp., de la manière suivante: „Zwei Exemplare dieser Rhizopode, welche ich einer neuen, noch nicht bekannten Gattung zuzähle, wurden in einer Probe aus dem See bei der Warneckbucht gefunden. Ihr Gehäuse besitzt die Gestalt einer Retorte mit kurzem Hals, welcher sich in der Richtung nach der Pseudopodienöffnung etwas trichterartig erweitert. Ihrem Aussehen nach erinnert diese Rhizopode außerordentlich an *Campascus triqueter* Penard, unterscheidet sich jedoch von dieser Art durch das Fehlen des plattenförmigen Kragens, welcher bei letzterer die Pseudopodienöffnung umgibt, sowie durch den Bau des Gehäuses, welches nicht mit Plättchen und Sandkörnchen bedeckt ist, sondern aus organischer Substanz von schaumiger Struktur besteht, deren einzelne Waben die Gestalt von Polyedern besitzen." Mais d'après les figures données par Awerinzew, la *Schaudinnula* est pourtant un *Campascus*, très-voisin du *Campascus triqueter*, et encore plus peut-être du *Campascus minutus* dont il ne différerait guère que par une taille supérieure; et les objections que fait l'observateur russe quant à une identité avec ce genre *Campascus* me paraissent bien faibles. En effet, cette collerette hyaline caractéristique, qui, comme je le disais en 1902 „est très-délicate et disparaît très-vite sur les coquilles mortes", pouvait manquer dans les deux exemplaires examinés par Awerinzew; je disais, il est vrai: „sur les coquilles mortes", mais, à la page suivante, pour le *Campascus minutus* j'allais plus loin, en écrivant: „elle est très-fragile, plus étroite que dans le *Campascus triqueter*, et on ne la rencontre guère que sur des individus en parfaite santé". Quant à la structure de l'enveloppe, je ne crois pas qu'Awerinzew l'ait parfaitement comprise; cette coquille est en réalité plus compliquée qu'il ne semble, et les réticulations qui la couvrent (et qui d'ailleurs se voient sur le *Campascus*, *triqueter* ou *minutus*, parfaitement semblables à celles que représente la figure d'Awerinzew), ne sont que l'expression des lignes de soudure des écailles entre elles, comme on le voit après l'action de l'acide sulfurique bouillant, ou encore mieux du chalumeau, qui dissout la chitine et isole les éléments siliceux.

On me pardonnera d'avoir consacré quelques lignes à ce *Campascus* qui en définitive n'a rien à faire ici, mais la question est d'une importance réelle. En

Des vallées de l'Himalaya on a rapporté 15 espèces, toutes communes en Europe sauf la curieuse *Bulinella indica* (Penard, 17) qui n'a pas encore été mentionnée ailleurs. Des Iles Canaries, Heinis (18) cite 33 Rhizopodes, mais dont quelques-uns étaient aquatiques, habitaient des mousses submergées, dans un jet d'eau à Orotava (*Amoeba guttula, A. fluida, Difflugia pyriformis* var. *lacustris*). Enfin Murray (19), en étudiant les organismes microscopiques renfermés dans un échantillon de mousse provenant de Gough Island (ou Diego Alvarez), un îlot perdu dans l'Atlantique entre l'Amérique du Sud et le Cap de Bonne Espérance, cite 4 rhizopodes; mais ce nombre devra être augmenté, car, dans un flacon que Mr Murray lui-même a bien voulu m'envoyer, pour être examiné au point de vue spécial des rhizopodes, j'ai trouvé 14 de ces organismes, tous communs en Europe, sauf une espèce particulière de *Corycia* qui devra être décrite comme nouvelle.

Pour faire suite à cette revue historique rapide, et avant de passer à la description de quelques espèces qui viendront s'ajouter à la liste déjà connue, je voudrais encore consacrer deux ou trois pages à des considérations générales, déduites surtout des études auxquelles je me suis livré dernièrement:

La faune rhizopodique des mousses est, dans sa généralité, la même partout; qu'on récolte ces végétaux au nord ou au midi, dans la plaine ou sur les sommets, ce sont les mêmes espèces qu'on y retrouvera. Sans doute, d'une station à l'autre on constatera de grandes différences; dans les mousses toujours fraîches et formant un épais tapis, la richesse sera plus grande que dans les lieux secs; dans les endroits humides, on verra s'ajouter aux types caractéristiques, par exemple ceux des tourbières, et quant aux mousses constamment submergées, elles combineront la faune qui leur est particulière avec celle des marais en général; mais, en somme, la faune des mousses est une faune spéciale, et que, alors, nous pouvons envisager comme formant deux catégories distinctes.

effet, ce genre n'est connu que par 3 espèces, d'ailleurs très-voisines les unes des autres, *Campascus cornutus* trouvé par Leidy au China Lake, Wyoming, à 10000 pieds d'altitude, puis *Campascus triqueter* et *Campascus minutus*, qui constituent deux des formes caractéristiques de cette faune toute spéciale qu'on trouve soit dans les lacs d'origine glaciaire soit sur les hauts sommets alpins. Or cette faune, d'après les dernières recherches (Tschokke, Monti, Penard, etc.), représenterait un reliquat de l'époque glaciaire, et serait d'origine arctique; et ce *Campascus* trouvé à l'Ile Waigatch, c'est-à-dire arctique lui-même, en prendrait un grand intérêt.

La première de ces catégories, et qu'on pourrait appeler la *Faune banale*, concerne des espèces dont le type ne présente rien de particulier, aucun trait qui le distingue des rhizopodes aquatiques en général; et la seconde, par contre, ou *Faune caractéristique*, se fait remarquer par une structure toute spéciale, qui témoigne d'une adaptation bien nette à des circonstances spéciales aussi.

Dans la première catégorie, ou Faune banale, nous trouvons surtout — indiquées ici, autant que j'ai pu le constater, par ordre de fréquence ou d'abondance relatives — les espèces suivantes:

Difflugia constricta Ehrenb.
Arcella arenaria Greeff
Phryganella hemisphaerica Penard
Assulina muscorum Greeff
Difflugia lucida Penard
Trinema enchelys (Ehrenb.)
„ *complanatum* Penard
„ *lineare* Penard
Euglypha laevis Perty
„ *ciliata* (Ehrenb.)
„ *compressa* Carter
Centropyxis laevigata Penard
Heleopera petricola Leidy
„ *sylvatica* Penard
Euglypha cristata Leidy
Cochliopodium crassiusculum Penard
Quadrula irregularis Archer
Pseudochlamys patella Clap. et Lachm.
Lieberkühnia Wageneri [1]) Clap. et Lachm.

A cette liste, on pourrait encore ajouter, comme se rencontrant de temps à autre, suivant le genre de mousse, la nature du sous-sol, etc., quelques *Nebela* (surtout *N. bursella*, *lageniformis*, *collaris*), *Amphizonella violacea*, *Corythion dubium*, *Cor. pulchellum*, *Difflugia arcula*. Quant aux difflugies proprement dites, on n'en rencontre que très-peu, et la *Difflugia pyriformis*, toujours si commune partout ailleurs, évite constamment les mousses ou n'y est représentée que par quelques variétés extrêmement petites.

Ces différents rhizopodes ne revêtent, nous l'avons dit, pas de type de structure qui leur soit particulier; mais cependant ils ne

[1]) On verra plus loin que peut-être, au lieu de *Lieberkühnia Wageneri*, il faudrait dire: *Lieberkühnia fluvialis* (Dujardin).

laissent pas que de présenter une apparence spéciale, et de faire preuve d'une adaptation réelle; c'est ainsi que presque tous sont de taille très-faible, ou se montrent sous forme de variétés plus petites que le type aquatique; la plupart sont comprimés, quelquefois très-fortement, de manière à pouvoir s'enfoncer profondément entre les feuilles des mousses ou les écailles de leurs bourgeons.

Ils bénéficient de la sorte jusqu'à la dernière minute de la moindre trace d'humidité, et s'arrangent comme ils peuvent à supporter d'une ondée à l'autre la sécheresse de l'été, qui pour eux est la mauvaise saison. Mais ils ne la supportent pas tous, loin de là, et quand on examine une récolte dans son ensemble, c'est un vrai champ de bataille que l'on a sous les yeux, où les morts sont toujours plus nombreux que les vivants, et par exemple pour les trois espèces les plus communes, *Difflugia constricta*, *Phryganella hemisphaerica* [1]), *Arcella arenaria*, il est souvent difficile, parmi des centaines d'enveloppes, d'en trier quelques-unes qui ne soient pas vides.

Si maintenant, de cette Faune banale nous passons à la seconde catégorie, à la Faune plus particulièrement caractéristique des mousses, nous trouvons des faits quelque peu différents: les organismes qui la composent font preuve d'une adaptation plus avancée, mieux en rapport avec les conditions, et grâce à une structure particulière ils semblent pouvoir se plier aux circonstances avec une plus grande facilité.

Nous trouvons alors ici les espèces suivantes:

Amoeba terricola (Dujardin) (*Corycie*, Dujardin)
„ *similis* Greeff
„ *sphaeronucleolus* Greeff
„ *fibrillosa* Greeff
„ *alba* Greeff
„ *papyracea* Penard
Corycia flava (Greeff) (*Amphizonella flava* Greeff)
„ *aculeata* (Greeff) (*Pseudochlamys aculeata* Greeff)
„ *Penardi* Awerinzew
Diplochlamys Leidyi Greeff

auxquelles nous pouvons ajouter aujourd'hui les espèces suivantes, qui font le sujet proprement dit de l'étude actuelle:

Amoeba muralis sp. n.
Diplochlamys fragilis sp. n.

---

[1]) Cette *Phryganella* est presque toujours indiquée par les auteurs comme *Difflugia globulosa*.

Diplochlamys timida sp. n.
„ *vestita* (PENARD 1890)
„ *Gruberi* sp. n.
Parmulina cyathus PENARD 1902
Capsellina bryorum sp. n.

Cette faune caractéristique, que notre tableau donne ainsi comme représentée par 17 espèces [1]), concerne donc des rhizopodes qui tous montrent dans leur structure quelque chose de particulier, et ce quelquechose, c'est en définitive toujours une condensation du plasma, lequel se durcit à la périphérie soit en un simple épaississement de l'ectoplasme (*Amoeba muralis*), soit en une pellicule à double contour, imperméable (*Amoeba terricola* etc.); ou bien aussi, comme dans le genre *Corycia*, cette enveloppe parcheminée est devenue un véritable sac, largement ouvert en principe, mais susceptible de se fermer par plissement et invagination de son bord libre; dans le groupe des *Diplochlamys* enfin, comme dans le genre *Capsellina* et probablement dans les *Parmulina*, il existe deux enveloppes, l'une interne pelliculeuse, l'autre externe épaisse et feutrée.

Nous allons maintenant examiner plus à fond quelques-uns au moins de ces organismes. Mes recherches, exécutées dans ces derniers mois (Mars, Avril 1909) aux environs de Genève, n'ont pas été, me semble-t-il, sans quelques résultats intéressants; mais cette étude est loin d'être complète, et s'il m'est permis d'invoquer comme excuse les circonstances atténuantes, je les chercherai dans la difficulté des observations [2]); ces organismes sont presque tous extrêmement petits, très-modestes dans leur apparence, à caractères difficiles à bien reconnaître, et devant eux, plus d'un chercheur passera outre, sans leur attacher l'importance que peut-être ils méritent en réalité.

Amoeba muralis spec. nova.

Les Amibes ne manquent pas dans les mousses; mais, eu égard aux conditions toutes spéciales auxquelles elles y sont soumises,

[1]) On pourrait, très-probablement, y ajouter au moins deux espèces encore, *Bulinella indica* PENARD, et cette nouvelle *Corycia* de Gough Island dont il a été fait mention plus haut (pag. 264).

[2]) Peut-être aussi dans l'état de ma vue après deux mois de ce travail tout particulièrement pénible. Il reste, en tout cas, encore toute une étude à faire; on peut même citer, dès à présent, au moins une minuscule *Difflugia*, deux *Pseudodifflugia* extrêmement petites aussi, dont l'une rappelle à première vue, et presque à s'y méprendre, la *Capsellina bryorum*; puis une ou deux, *Heleopera* très-délicates, et probablement plusieurs tout petits *Cochliopodium*.

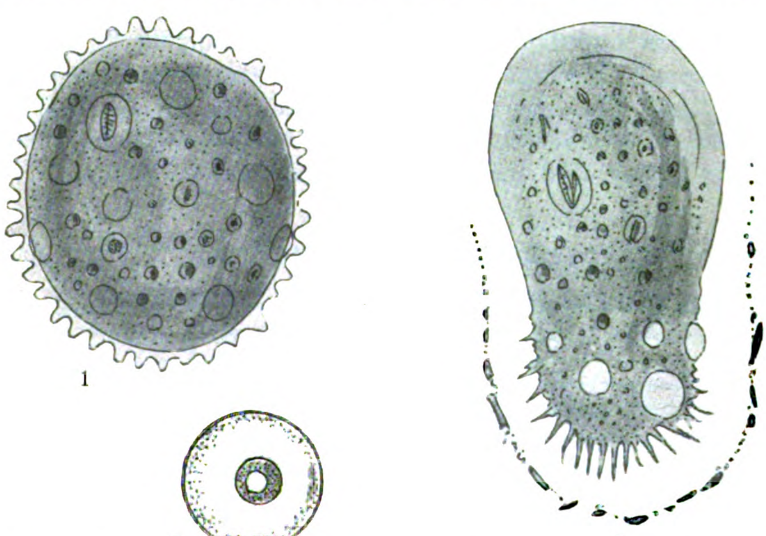
presque toutes sont ici revêtues d'une véritable enveloppe, d'une pellicule, très-mince et imperméable; ce ne sont pas, en réalité, des amibes „nues“; elles forment un groupe à part, dont le prototype est fourni par l'*Amoeba terricola*.

Mais toutes les amibes des mousses rentrent-elles dans cette catégorie? n'en trouve-t-on pas de vraies, nues, identiques dans leur structure aux formes purement aquatiques?

On en rencontre, en effet, et même on en a décrit plusieurs, *Amoeba anthyllion*, *A. velifera* (Maggi 9). *A. brevipes*, *A. granifera*, *A. gracilis* (Greeff 5); mais toutes, en tant qu'espèces décrites, n'ont eu qu'une existence éphémère; elles sont extrêmement petites, à caractères vagues, incertains; on ne sait les déterminer, on ne s'en occupe pas.

Je voudrais en décrire une, pourtant, relativement assez grande, curieuse dans sa structure, et qui sans être commune, se rencontre un peu partout, dans les mousses des bois et des haies, comme aussi sur les vieux murs; en l'examinant d'un peu près, on pourra toujours la reconnaître sans difficulté.

Lorsqu'on la rencontre sous l'objectif, perdue au milieu des particules de toute sorte, débris végétaux et autres qu'on vient de transporter sur la lamelle, l'*Amoeba muralis* est le plus souvent immobile, au repos, ramassée sur elle-même en une petite masse arrondie ou ovale (fig. 1), de 50 à 80 μ de longueur, délimitée du



Amoeba muralis. — Fig. 1. L'animal au repos, arrondi en boule. — Fig. 2. Le même se mettant en marche. — Fig. 3. Un des noyaux.

milieu ambiant par une ligne très-nette, presque noire, indice d'un plasma périphérique fortement condensé; et alors, de cette bordure nette se détachent sur l'extérieur une quantité considérable de protubérances ou prolongements radiaires, courts, digitiformes, analogues en somme à ceux qui dans les amibes ordinaires forment si souvent une „houppe" caudale, mais ici disposés sur le pourtour tout entier de l'individu.

En outre, et c'est là un trait caractéristique intéressant, si l'on examine attentivement l'entourage de l'amibe, on remarque que les particules de toute sorte répandues partout dans le liquide n'arrivent pas jusqu'à l'animal; elles ne touchent pas au plasma, ni même aux prolongements radiaires, comme arrêtées par un obstacle invisible (fig. 2); on peut croire à l'existence d'une enveloppe mucilagineuse, absolument invisible d'ailleurs, et telle qu'on la rencontre par exemple chez certaines algues, diatomées, etc.; et cette enveloppe existe en effet, car si, après avoir isolé l'amibe sous une goutte d'eau claire, on ajoute au liquide un peu d'encre de Chine, l'animal, au sein de la masse noirâtre, se voit distinctement entouré comme d'un ruban blanc.

Ce rhizopode, en somme, est capable d'émettre une substance mucilagineuse, parfaitement incolore, et qui l'entoure d'une sorte d'enveloppe, d'essence assez fugitive d'ailleurs, car lorsque l'amibe se met en marche, le mucilage disparaît, d'abord à la partie antérieure, (fig. 2) puis enfin de toute la surface de l'individu.

Si maintenant nous examinons de plus près notre amibe, nous lui trouverons un plasma assez fortement vacuolisé, et, dans l'ectoplasme, nous constaterons la présence, outre les vacuoles ordinaires, de vésicules contractiles vraies, au nombre de dix à douze en général, qui peuvent faire une saillie assez forte au dehors, pour s'y vider brusquement et se reformer à la même place. A l'état de repos de l'animal, ces vésicules contractiles sont disséminées un peu partout; pendant la marche, elles s'amassent surtout en arrière.

Dans l'endoplasme, nous trouvons des vacuoles digestives, qui renferment des fragments végétaux, puis des grains d'excrétion brillants, des myriades de granulations incolores extraordinairement petites (grains de Künstler, mitochondries, etc.?), et enfin les noyaux.

L'*Amoeba muralis* est en effet une amibe multinucléée; dans la règle, les noyaux restent invisibles, perdus au milieu des éléments de toute sorte qui remplissent le plasma; mais si, après avoir isolé l'animal, l'on le laisse s'aplatir toujours plus fortement sous la pression graduelle du couvre-objet, par évaporation lente de l'eau, ils finissent

par apparaître bien nets; et l'on peut les examiner mieux encore après un coup brusque porté sur le cover, qui déchire l'amibe et expulse en plein liquide une partie des noyaux (fig. 3).

Toujours en nombre considérable, 40, 50, ou 60, suivant la taille de l'individu, ces noyaux, sphériques, de 6 μ environ de diamètre, très clairs et purs dans leur apparence, montrent d'abord une membrane nucléaire incolore, relativement assez forte, puis une large zône de suc nucléaire, limpide, souvent avec quelques poussières ou micelles infiniment petites disposées surtout à la périphérie, et enfin un nucléole central ou subcentral, sphérique, d'un bleu azuré très-pur, nettement délimité sur ses bords, et de 2 μ environ de diamètre. De plus, dans ce nucléole, on distingue une „lumière" centrale, une vacuole ou lacune ronde, relativement grande, et dont, si j'ai bien observé, la présence est normale sur les noyaux vivants ou fraîchement expulsés du corps, mais qui après quelques instants disparaît à la vue en se résorbant dans le plasma nucléolaire.

Dans l'*Amoeba muralis*, les déplacements sont lents; l'animal, en quittant l'état de repos, se déforme petit à petit, se met en étoile, puis pousse par ci par là des prolongements larges, et enfin s'allonge, par une expansion antérieure d'abord lobée, divisée, puis aplatie en lame; pendant ce temps le plasma de la partie postérieure se condense en une masse plus épaisse, qui se hérisse d'aspérités et de fibrilles radiaires (fig. 2).

J'ai trouvé l'*Amoeba muralis* dans diverses localités, mais surtout à Chougny et à Veyrier sur des vieux murs.

Diplochlamys Leidyi Greeff.[1]

Il peut paraître étrange que je consacre ici un chapitre à un organisme que, probablement, je n'ai jamais vu; mais si je le fais, c'est, d'abord, que nous aurons ici de la sorte pour ainsi dire une monographie complète du groupe auquel ce rhizopode se rattache, et ensuite qu'il me paraît indispensable, pour une juste confrontation des caractères dans les différentes espèces que nous aurons à considérer, de mettre sous les yeux du lecteur tous les éléments du sujet. Je me bornerai d'ailleurs à donner, pour le moment sans commentaires, une copie textuelle des plus importantes parmi les lignes que Greeff a consacrées à ce nouveau type de rhizopode qu'il venait de découvrir, et qu'il décrit d'une manière assez précise, bien que malheureusement sans figures ni indications de grandeur:

[1]) Sitz.-Ber. d. Ges. z. Bef. d. ges. Naturw. Marburg Nr. 3 p. 104 1888.

„Nicht allzu häufig fand ich in der Erde unter Moosen, Farrn- und Sedum-Arten, an und auf einer nach Süden gelegenen Mauer des Marburger Schloßberges den merkwürdigen monothalamen Rhizopoden, für den ich den obigen Genus-Namen wähle, weil er, hierin mit *Pseudochlamys* verwandt, mit einer doppelten Schale versehen ist, und den Species-Namen mit dem Wunsche, dem ausgezeichneten Erforscher der Süßwasser-Rhizopoden-Fauna Nordamerikas hierdurch ein Zeichen meiner Verehrung zu bieten.

„Bei den ersten Begegnungen wird man unseren Rhizopoden, namentlich bei der Rückenansicht der Schale, kaum als einen solchen erkennen, sondern ihn für einen aus kleinen Sand- oder Erdkörnern zusammengeballten Körper halten. Erst wenn er die von einer völlig hyalinen Zone umgebene Schalenöffnung, also die Bauchseite derselben, dem Beschauer zuwendet, wird man auf das Objekt als etwas Außergewöhnliches aufmerksam.

„Die Schale der *Diplochlamys Leidyi* besteht aus zwei scheinbar ineinandergeschalteten und am Rücken verwachsenen Teilen. Der äußere und Rückenteil stellt einen halbkugeligen oder noch tieferen Becher dar, ist weich und nachgiebig und rundum mit anklebenden oder, wie es scheint, miteinander verwebten Fremdkörpern, namentlich Erd- und Sandkörnern, dicht bedeckt, so daß er völlig undurchscheinend ist. Aus der weiten runden Öffnung dieses Bechers, ihn zur Kugelform ergänzend, erhebt sich nun eine zweite, ebenfalls mehr oder minder halbkugelige, völlig hyaline und äußerst zarte Schale, die auf ihrem Scheitel eine meist kleine und gebuchtete, aber an Umfang und Gestalt wechselnde Öffnung zum Austritt der Pseudopodien etc. umschließt, von der aus in radiärer Richtung über dem Umfang der Schale zahlreiche unregelmäßige und beständig wechselnde Falten ziehen, als Ausdruck der Bewegungen des eingeschlossenen und mit der Schale verbundenen Rhizopoden.

„Die Pseudopodien sind, ähnlich wie bei *Pseudochlamys*, *Arcella*, etc., mehr oder minder fingerförmig, zuweilen auch sich gabelnd, treten aber, wie bei der ersteren, verhältnismäßig selten nach außen hervor, während doch, und zwar durch die inneren Bewegungen des Plasmakörpers, denen die weiche, faltbare Schale folgt, Form und Ortveränderungen bemerkbar sind.

„Stets erkennt man im Innern eine größere Anzahl kontraktiler Räume, vornehmlich in dem hyalinen, der Schalenöffnung zu gelegenen Teil des Plasmakörpers. Die Räume ziehen sich langsam zusammen und tauchen langsam wieder auf, aus kleineren zusammen-

fließenden Bläschen allmählich entstehend und wachsend, ähnlich wie bei der *Amoeba terricola* zuerst von mir beobachteten Erscheinung.

„Die *Diplochlamys Leidyi* gehört zu den vielkernigen Rhizopoden; in den größeren Exemplaren zählte ich bis zu 20, in anderen 10, 11, 12 etc., während ich in den kleinsten nur einen einzigen Kern auffinden konnte. Die Kerne der vielkernigen und größeren Exemplare sind verhältnismäßig groß und von einer sehr merkwürdigen Konstitution, wie sie auch bei anderen Rhizopoden vorkommt, und wie sie zuerst, soviel mir bekannt, von Gruber in Süßwasseramöben beobachtet und genauer beschrieben sind. Der Kern ist umschlossen von einer Membran, auf diese folgt eine schmale, hyaline Kernsaftzone, hierauf ein fast regelmäßiger Kranz von dunkelglänzenden Körnern, dann wieder eine hyaline Zone, die nun einen zentralen, verhältnismäßig großen und runden Nucleolus, der bei starker Vergrößerung im Innern ein oder zwei kleine Bläschen erkennen läßt, umschließt. Übrigens wechselt das Aussehen der Kerne, namentlich sind die in den kleineren und jüngeren Exemplaren sich findenden, einfacher gestaltet.“

Diplochlamys fragilis spec. nova.

Dans cette espèce, dont la taille est assez variable, mesurant de 70 à 125 μ dans les limites extrêmes, mais où les exemplaires inférieurs à 90 μ et supérieurs à 110 μ sont rares, nous trouvons une forme hémisphérique, ou plutôt, pourrait-on dire, celle d'une sphère aplatie sur elle-même.

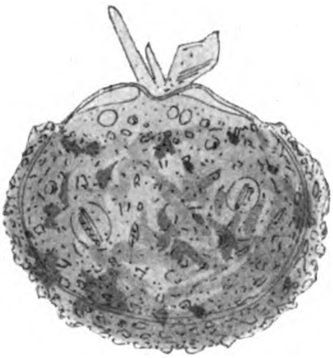
L'enveloppe externe, de teinte grisâtre on brunâtre, salie de taches d'un noir plus ou moins vif, constitue une sorte de cupule, qui se replie quelque peu sur la face ventrale et l'enferme d'un cercle indécis, irrégulier dans son contour. Elle est composée tout entière de petites particules étrangères, les unes siliceuses, les autres (généralement plus nombreuses) d'origine végétale, fragments de fibres ou de cellules de mousses que l'acide sulfurique bouillant dissout instantanément. Ces éléments sont unis les uns aux autres d'une manière assez lâche, et disposés sans ordre; on peut assez facilement les dissocier, détacher de l'enveloppe des fragments plus ou moins volumineux, et mettre en partie à nu le corps proprement dit recouvert de sa pellicule.

Cette dernière, ou enveloppe interne, souple et parfaitement transparente, avec un double contour nettement visible, enferme le plasma comme un sac délicat, lequel est percé, sur la face ventrale, d'une ouver-

ture relativement petite, ronde en principe, mais qui peut varier dans son contour, ou bien se fermer complètement par invagination du sac pelliculeux, en formant des plissements radiaires, qu'on ne distingue d'ailleurs que rarement et avec difficulté.

Cette enveloppe interne, quoique plus épaisse peut-être que dans les autres espèces du genre, est extrêmement fragile et délicate, comme du reste le corps plasmatique tout entier, qui tremblote à la moindre pression, et qui, pour être manié et retourné dans tous les sens, nécessite de grandes précautions.

Elle est normalement cachée presque entière sous la couverture hémisphérique externe, et ne se montre à nu que sur la face buccale, faisant au dehors une saillie, très-peu prononcée sauf sur les individus malades ou morts, dans lesquels la pellicule se voit dévaginée à la bouche, déployée en avant, et semble prolonger l'enveloppe grossière externe d'un second hemisphère lisse et transparent (fig. 3).

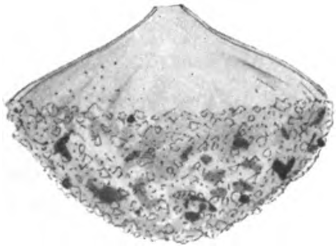


1

Diplochlamys fragilis.

Fig. 1. L'animal vu de côté; on voit se faire jour deux pseudopodes; à leur droite, une petite pierre.

Sous cette enveloppe hyaline se voit le plasma, séparé quelquefois, à sa partie antérieure, de la pellicule par un espace libre. D'un gris pâle, il est peu compact, semi-liquide dans ses couches périphériques, et renferme, outre des grains d'excrétion, des proies, etc.,



3



2

Diplochlamys fragilis. — Fig. 2. Noyau. Fig. 3. Individu mort; l'enveloppe interne hyaline, distendue, s'est projetée au dehors.

un assez grand nombre de vacuoles dont quelques-unes sont contractiles, et enfin les noyaux (fig. 2), sur lesquels il faut nous arrêter un peu plus au long.

Ces noyaux sont toujours très-nombreux, 30, 40 et même plus, et je n'ai jamais vu descendre à 20 ce chiffre qui dans les gros individus peut dépasser 50. Ils sont sphériques, et d'un diamètre de 6 μ environ, sans s'écarter jamais beaucoup de cette mesure, une plus grande taille des individus correspondant simplement à un plus grand nombre de noyaux.

Leur structure est assez curieuse (fig. 2): sous une membrane à double contour bien nette se voit d'abord un espace clair très-étroit, en apparence une simple ligne blanche; puis vient une première zône de plasma, d'un bleu mat, finement granulé, et rempli de ponctuations ou vacuoles extraordinairement petites; à l'intérieur de cette première zône annulaire (c'est-à-dire qui paraît, en coupe optique, représenter un anneau) de plasma bleu, se montre encore une deuxième zône incolore, un anneau clair très-étroit, et enfin on trouve le nucléole, relativement volumineux, sphérique, presque toujours un peu excentrique, et percé de nombreuses vacuoles.

Notons encore un trait curieux: bien que, en règle générale et surtout dans les grands individus, les noyaux semblent être disséminés sans ordre un peu partout dans le plasma, dans beaucoup d'autres exemplaires ils paraissent être localisés dans une certaine région, probablement la région antérieure, car, sous l'effet de la pression exercée sur l'individu, on les voit sortir avant tout autre élément du plasma, et comme en un seul paquet.

Il ne m'a été qu'une seule fois possible de voir l'animal déployer ses pseudopodes, deux prolongements pâles, digitiformes, larges à la base, l'un arrondi l'autre pointu au sommet, et qui se déplaçaient dans le liquide avec une grande lenteur.

C'est dans une seule localité que j'ai trouvé la *Diplochlamys fragilis*, au pied d'un buisson dans mon propre jardin, après l'avoir cherchée (ou plutôt après avoir cherché la *Diplochlamys Leidyi*, que j'ai cru d'abord avoir trouvée dans cette espèce) vainement et longtemps bien loin à la ronde.

Maintenant, cette espèce est-elle vraiment autonome? n'est-ce pas là, en effet, la *Diplochlamys Leidyi?*

Entre la description qu'on vient de lire et celle de Greeff, on trouve certaines différences; Greeff parle d'un revêtement plutôt siliceux, „particules de terre et de sable", d'une enveloppe hyaline qui sur la face ventrale continue l'enveloppe externe et la prolonge

en forme de sphère („ihn zur Kugelform ergänzend“; probablement Greeff a-t-il vu surtout des individus malades); il semble aussi que Greeff n'eût pas manqué de faire ressortir certains détails, par exemple le défaut de consistance de l'enveloppe externe, la fragilité toute particulière du plasma, s'il les eût remarqués; mais tout cela n'a pas grande importance, et je serais disposé à croire à une identité spécifique, n'étaient les noyaux, qui semblent décidément indiquer quelque chose de foncièrement différent. D'après Greeff, ils sont „relativement grands“, et plus dans les gros individus que dans les petits, tandis que dans la *Diplochlamys fragilis* leur volume est de 6 μ, c'est-à-dire très-faible, et garde ce diamètre quelle que soit la taille de l'individu; de plus, Greeff indique ces noyaux comme étant en nombre très-restreint, de 1 à 20, et plus généralement de 10 à 12; dans la *Diplochlamys fragilis* c'est 25 à 60 qu'il faut dire. C'est là un caractère à mon avis de premier ordre, et qui, ajouté à ceux de moindre importance, me décide à distinguer deux types spécifiques différents. Ma conviction n'est pas faite encore, il est vrai; mais les *Diplochlamys* forment tout un groupe, un groupe très-homogène, très-peu connu, et qui nous montre au moins, comme nous allons le voir, déjà quatre formes bien distinctes; et il n'y aurait rien d'étonnant à ce qu'il y en eût une cinquième, celle que Greeff a vue dès 1888. Peut-être, un jour, retrouvera-t-on la *Diplochlamys* de Greeff, et verra-t-on que c'est aussi la mienne; il sera facile alors de rayer du catalogue le nom de *fragilis*; mais le fait contraire peut se présenter, c'est-à-dire qu'on reconnaîtra là deux organismes distincts, et, d'après moi, cette dernière solution étant la plus probable, c'est comme distincts que je les ai envisagés.

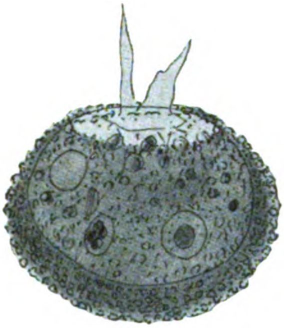
Diplochlamys timida spec. nova.

Dans cette espèce, la taille est très-faible; le plus souvent, elle mesure de 45 à 50 μ, y compris l'enveloppe externe très-épaisse elle-même; le plus gros exemplaire examiné arrivait à 59 μ; par contre, les petits individus de 40 μ ne sont pas rares.

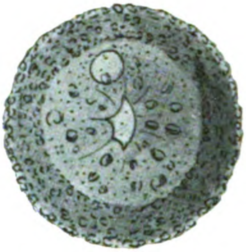
Le type de structure est le même que dans la *Diplochlamys fragilis*, et comme forme générale, nous ne pouvons noter qu'une profondeur relative plus forte de la cupule enveloppante; plutôt qu'un hémisphère, nous avons ici presque une boule.

Le revêtement externe, relativement plus épais que dans l'espèce précédente, plus compact, forme un feutrage assez serré, très-clair sur la plupart des individus, légèrement verdâtre ou jaunâtre, et

qui devient brun avec le temps. Au contraire de la *Diplochlamys fragilis* où nous trouvons un mélange d'éléments organiques et de particules siliceuses, ce revêtement est ici tout entier formé de parcelles organiques, très-petites, fragments minuscules arrachés aux mousses, clairs, irréguliers mais aux angles arrondis, peut-être remaniés et polis par l'animal dans l'intérieur de son plasma, et qui se dissolvent sans laisser de traces dans l'acide sulfurique concentré et bouillant.



1



2

Diplochlamys timida. — Fig. 1. L'animal vu par le côté, avec pseudopodes déployés. — Fig. 2. Un autre, vu par la face ventrale; au centre, l'ouverture buccale, avec rayonnement caractéristique; en haut, vésicule contractile.

L'enveloppe interne, hyaline, très-souple, plus fine que dans l'espèce précédente et pourtant plus résistante, est aussi bien plus profondément invaginée, et forme à la face buccale des plis radiaires beaucoup plus distincts (fig. 2); elle s'enfonce, comme un tube à paroi cannelée, jusque bien loin dans l'intérieur du plasma, si loin même quelquefois, qu'elle va presque rejoindre la paroi dorsale (fig. 3); l'extrémité de ce tube reste alors ouverte en une bouche aux contours très-irréguliers, souvent évasée, par où sortiront les pseudopodes; ou bien, au contraire, le tube buccal se ferme hermétiquement par rapprochement de ses parois.

Sur l'animal en bonne santé, cette pellicule, ou enveloppe interne, se montre toujours telle à peu près que nous venons de la décrire, c'est-à-dire plus ou moins invaginée à la face buccale; mais il arrive souvent, même quelquefois sur presque tous les exemplaires d'une récolte, qu'on la trouve déployée au dehors, complètement dévaginée; c'est alors signe de maladie, d'asphyxie probablement,

car le fait ne se présente le plus souvent qu'après une nuit passée dans l'eau du bocal.[1])

A travers cette enveloppe hyaline, on distingue assez facilement le plasma, d'un gris bleuâtre très-clair; on y voit souvent, outre les éléments nutritifs dans des vacuoles, de gros grains d'excrétion brillants, qui logés sous les plis radiaires formés à la face buccale, présentent quelquefois aussi une disposition vaguement rayonnée (fig. 2).

Près des bords, on remarque une vésicule contractile, grande et belle, ou bien on en voit deux ou trois, qui fonctionnent régulièrement, mais d'une manière paresseuse.

On ne trouve jamais qu'un seul noyau, logé en arrière sous le dôme dorsal, mais toujours excentrique, et la raison de cette excentricité doit sans doute être cherchée dans le fait que cet organe, s'il était central, se trouverait juste devant l'ouverture invaginée, la boucherait presque, position défavorable, tant à cause des pseudopodes gênés par là dans leur fonctionnement, que pour le noyau lui-même, qui dans les Rhizopodes occupe toujours en principe la région la mieux protégée du plasma.

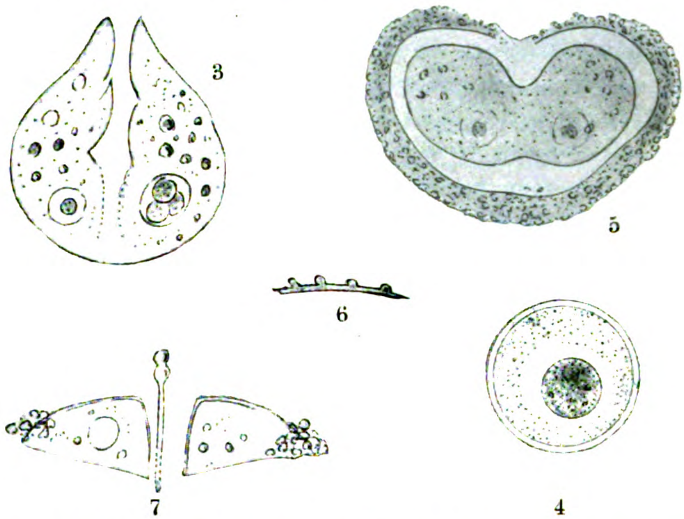
Ce noyau, sphérique, de $7^1/_2$ à 10 μ de diamètre (fig. 4), possède une membrane relativement très-forte, sous laquelle se voit un suc nucléaire pâle, finement ponctué de granulations minuscules, et baignant à son tour un nucléole de volume plutôt faible, rond, granulé dans son intérieur, et généralement un peu excentrique lui-même.

Les pseudopodes, compacts, épais à leur base, le plus souvent coniques et pointus à leur sommet, sont difficiles à distinguer. Souvent on n'en voit qu'un seul, ou bien deux ou trois; ils se déplacent avec une lenteur désespérante, mais dans une occasion particulière j'ai été témoin d'un phénomène qui montre qu'il en peut être autrement: un petit organisme végétal étant venu au contact d'un prolongement de plasma qui sortait par l'orifice buccal, y fut immédiatement agglutiné, et tout à côté un second pseudopode se forma rapidement, s'allongea, se recourba sur la proie, puis se fondit tout autour de cette dernière en une ampoule dans laquelle la proie

[1]) Quelquefois, cette dévagination se montre de suite, immédiatement après la récolte, et probablement (ici d'ailleurs comme chez d'autres rhizopodes, ou bien chez des *Rotifères*, *Callidina angusticollis*, etc.) faut-il expliquer le fait par l'arrivée subite de l'eau sur des mousses particulièrement sèches; le liquide pénètre brusquement les tissus, et toute la masse, dilatée à l'intérieur d'une enveloppe de capacité temporairement trop faible, fait irruption au dehors.

se vit emprisonnée. Tout le processus avait duré quelques secondes à peine, rapidité tout-à-fait remarquable pour un organisme si apathique en général.

L'animal ne déploie d'ailleurs que très-rarement ses pseudopodes; la plupart du temps, on le voit fixé par sa face buccale à un objet quelconque. Je me suis demandé quelquefois si la pellicule buccale n'était pas quelque peu glutineuse, et si certaines protubérances minuscules en tête d'épingle qu'on y voit souvent à la surface (fig. 6) ne contribuaient pas à la fixation. A plusieurs reprises, également, j'ai remarqué, sur des animaux détachés de leur point de fixation, une sorte de tige brillante, noueuse, renflée par places et terminée en massue (fig. 7), qui par son extrémité distale faisait saillie au dehors et par l'autre plongeait jusqu'au fond du tube buccal, et je ne serais pas loin de croire qu'il y a là un organe de fixation temporaire, un pseudopode durci à sa périphérie, et qui, j'ai pu m'en assurer, se ratatine peu à peu, s'amincit, et se résorbe lentement.



Diplochlamys timida. — Fig. 3. Un individu privé de son enveloppe externe; on voit la pellicule hyaline profondément invaginée. A gauche, noyau; à droite, proie dans une vacuole. — Fig. 4. Noyau. — Fig. 5. Division. — Fig. 6. Aspérités éventuelles sur la pellicule ventrale. — Fig. 7. Tigelle de fixation (?).

Dans deux occasions différentes, j'ai assisté à des phénomènes de division (fig. 5); l'animal, ici comme dans les rhizopodes à enveloppe molle et souple (*Pamphagus*), se creuse, à la face orale d'abord, d'un sillon toujours plus profond, et les deux subdivisions s'écartent

toujours plus, en même temps que l'enveloppe feutrée s'élargit considérablement, sans doute pour se refermer plus tard autour des nouveaux individus.

La *Diplochlamys timida* n'est pas rare, bien qu'en raison de sa faible taille, et grâce aussi à son apparence qui au premier abord n'indique guère un rhizopode, elle passe facilement inaperçue. Je l'ai rencontrée dans différentes stations, représentée par des individus peu nombreux; cependant, à Veyrier (mousses sur un mur), puis au Bois des Frères (mousses au pied des sapins), les exemplaires en étaient moins clairsemés.

Diplochlamys vestita (Penard).
Amoeba vestita Penard 1890.[1])

Bien que les lignes qui vont suivre puissent à la rigueur être envisagées comme décrivant un organisme nouveau, il n'en est pas moins vrai que la première mention de cette espèce remonte à 1890; je parlais en effet à cette époque d'une „*Amoeba vestita*“, trouvée dans les mousses près de Wiesbaden; un rhizopode qui me paraissait „quelque peu problématique“, et dont je n'avais pu distinguer les pseudopodes. J'avais également, sans doute, eu affaire surtout à des individus malades, car ce plasma en boule, ces „kystes arrondis en sphère et entourés d'une membrane claire“, et que l'on remarquait sur la plupart des individus, n'étaient pas autre chose que la masse du plasma, malade ou mort, entouré de sa pellicule caractéristique, dilaté par la trop brusque imbibition d'eau.

Depuis ce temps, personne n'a jamais pris la peine de citer cette *Amoeba vestita*; moi-même, je ne m'en étais plus inquiété, et je n'étais pas loin de croire à une erreur quant à la signification de l'organisme que j'avais rencontré,[2]) lorsque tout à coup je le retrouvai, en 1902, au Bois des Frères, puis plus tard, en 1903, au marais de Bernex. Mes recherches, cependant, ne me permirent pas encore d'arriver à des résultats concluants, et ce n'est que cette année, en Mars et Avril 1909, qu'elles finirent par être couronnées d'un succès relatif. Il y a là une *Diplochlamys*.

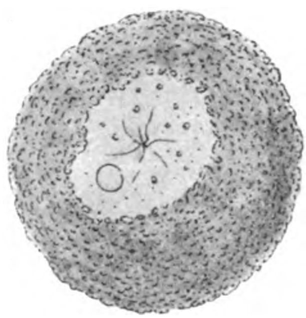
La taille, dans cette espèce, est extrêmement variable, 75, 85, 90, 100 et jusqu'à 130 μ (nous examinerons plus loin cette variété

[1]) Etudes sur les Rhizopodes d'eau douce. Mém. Soc. Phys. Hist. Nat. Genève Tome XXXI No. 2 p. 192 1890.

[2]) J'ignorais totalement alors, comme d'ailleurs je l'ai ignoré jusqu'à cette année même (1909), l'existence du travail de Greeff et d'un genre *Diplochlamys*.

des mousses immergées, qui arrive à 300 et même à 400 μ); comme forme, c'est toujours à peu près celle des deux espèces que nous venons de décrire, celle d'un hémisphère, mais ici plus aplati, à dôme moins élevé.

L'enveloppe externe n'est plus ici composée de particules sans forme précise; ce sont des sphérules, de petites boulettes, claires, jaunâtres, ponctuées de points noirs (fig. 3), soit uniformément arrondies, soit, plus souvent encore, mamelonnées, et comme composées chacune de globules partiels. Ces boulettes, de nature probablement cellulosique, solubles facilement dans l'acide sulfurique concentré bouillant, sont évidemment des éléments remaniés, (peut-être en même temps des déchets de nourriture), que l'animal prépare et pour ainsi dire pétrit au sein de son plasma, où on les trouve en grand nombre en voie de formation.



1

Diplochlamys vestita.

Fig. 1. L'animal vu de trois quarts, par la face ventrale.

A la surface du corps, elles forment, serrées les unes contre les autres, et liées suivant toute apparence par un cément mucilagineux, une enveloppe à plusieurs couches, dont la plus interne repose elle-même sur une véritable pellicule, extraordinairement fine, et dont la présence n'est guère indiquée que près de l'ouverture buccale (fig. 2).

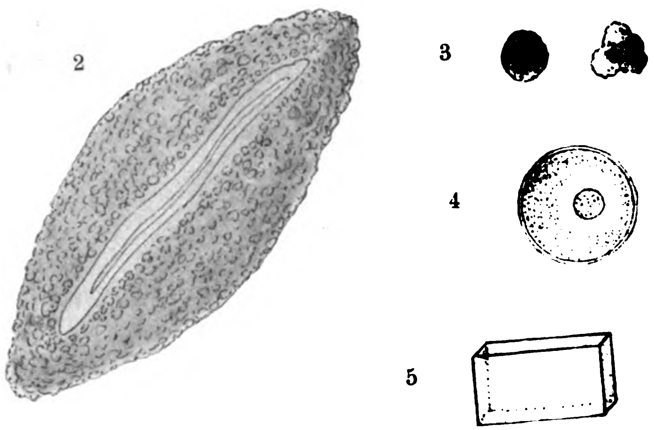
Toute cette enveloppe externe forme donc un sac qui se moule sur le corps hémisphérique, et dont le bord ouvert, aminci, moins fourni de boulettes, se replie en dessous, sur la face buccale, et laisse béante une aire ou lacune plus ou moins vaste, généralement plus étroite que dans les *Diplochlamys* jusqu'ici considérées. A l'état de repos de l'animal, toute la masse peut se fermer en une boule aplatie, on devient discoïde, ou encore se contracte en fuseau, si bien que les bords de l'enveloppe se rapprochent sur la face ventrale (c. à d. en même temps buccale) jusqu'à se toucher, et ne laissent entre eux qu'une fente étroite (fig. 2).

Sous cette première enveloppe, il en existe une seconde, très-fine, susceptible de se plisser en étoile sur la face ventrale (fig. 1), et ouverte en une bouche centrale ronde en principe, très-variable en réalité dans son contour, et par laquelle sortent les pseudopodes.

Ces derniers se montrent encore plus rarement que dans les espèces précédentes, si l'on en peut juger par le fait que malgré

de patientes recherches je ne les ai vus que deux fois;[1]) on voit se faire jour, très-lentement, un, ou deux, prolongements coniques, très-larges à la base, pointus au sommet, faits d'un plasma en apparence très-délicat bien que tout particulièrement compact. Beaucoup plus souvent, le plasma pseudopodique ne se montre que sous la forme d'une masse arrondie, à contour très-net, qui remplit comme un bouchon l'ouverture buccale, et reste inerte, sans changer d'apparence.

Dans le plasma, on constate la présence de quelques vésicules contractiles, souvent une seule près de la bouche, puis de proies



Diplochlamys vestita. — Fig. 2. Un individu replié sur lui-même en forme de fuseau. — Fig. 3. Boulettes caractéristiques qui forment l'enveloppe externe. — Fig. 4. Noyau. — Fig. 5. Un des cristaux caractéristique.

diverses, de boulettes destinées à renforcer le revêtement externe, de grains d'amidon et d'excrétion, de myriades de granulations sphériques de 1 μ à peine, puis enfin des noyaux, fort petits mais quelque peu variables de volume (3 à 5 μ suivant les individus), et dont le nombre est considérable, dépassant presque toujours le chiffre de 100.

Leur structure est encore à peu près celle que nous avons constatée dans les autres *Diplochlamys*: une membrane nucléaire relativement très-forte, et un nucléole subcentral noyé dans un suc nucléaire

[1]) Il est possible que dans tous ces organismes spéciaux aux mousses, l'absence si fréquente des pseudopodes correspond à un malaise général, et qu'à l'état de nature, dans les mousses fraîches, ils se déploient plus vigoureusement; un individu trouvé dans l'essence de girofle, et qui provenait d'une récolte brusquement inondée d'alcool absolu après quelques heures de repos complet, se montrait porteur d'un faisceau puissant de pseudopodes.

pâle, lequel renferme lui-même, surtout dans les régions périphériques, des poussières très-petites (fig. 4).

Mentionnons encore la présence assez fréquente, et typique pour cette espèce, de cristaux (fig. 5); logés au sein du plasma en nombre très-restreint, 2 ou 3, ou souvent un seul, très-grands (jusqu'à 25 μ et plus), incolores, ils sont d'une pureté admirable, et leurs arêtes géométriquement régulières montrent le système du prisme droit à base carrée. Ils se dissolvent dans l'acide sulfurique concentré, avec formation de gaz.

La *Diplochlamys vestita* s'est rencontrée au Bois des Frères, dans la mousse sous les sapins, puis, en moindre abondance, à Veyrier, à Chougny et dans quelques autres localités.

Cette espèce, quoique bien différente en réalité de celles que nous venons de décrire, peut facilement donner lieu à des méprises; elle varie dans une large mesure, et semble n'être pas bien fixée dans ses caractères. C'est ainsi qu'à Troinex, elle s'est montrée représentée par une forme relativement très-petite, ne dépassant pas 75 μ, pourvue d'une enveloppe très-épaisse faite de boulettes très-petites et très-serrées et qui, bien que claires et à peine jaunâtres prises une à une, donnaient une teinte brune à l'ensemble du revêtement. Les noyaux, de $3^1/_2$ à 5 μ de diamètre, très-nombreux, montraient la structure typique. A première vue, cet organisme ressemblait à s'y méprendre à la *Diplochlamys Gruberi* dont il sera question tout-à-l'heure.

Au marais de Bernex, par contre, dans certains tapis de mousses presque toute l'année sous l'eau, la *Diplochlamys vestita* était devenue véritablement géante. La taille, de 190 à 200 μ en général, pouvait arriver jusqu'à 400 μ; les boulettes de recouvrement, d'un jaune très-clair, et qui formaient une couverture épaisse mais peu compacte, mesuraient dans certains exemplaires jusqu'à 18 μ; les noyaux, au nombre de plusieurs centaines, typiques dans leur structure, atteignaient 8 μ; et les cristaux quadratiques, d'une pureté admirable et aussi bien taillés qu'aurait pu le faire le meilleur joaillier, arrivaient à 25, 30 et dans un exemplaire jusqu'à 52 μ en longueur.

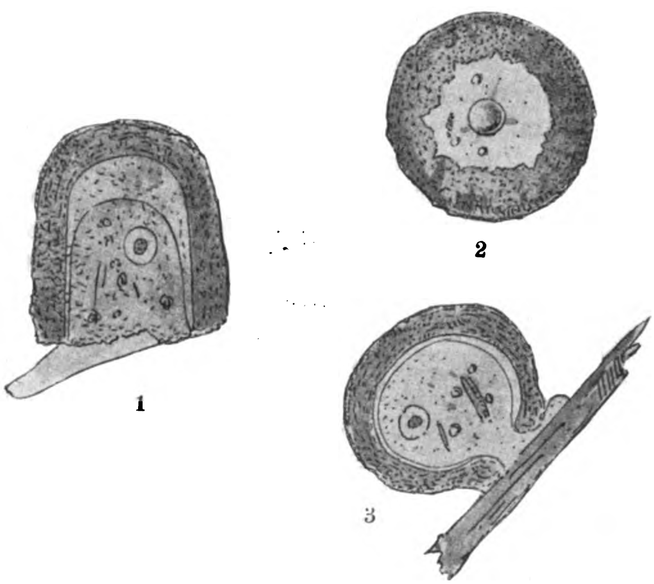
Diplochlamys Gruberi spec. nova.

Dans ce rhizopode, dont la taille est le plus souvent de 65 μ environ, la forme est encore celle des *Diplochlamys* en général, mais

beaucoup plus allongée, et même assez souvent elle revêt l'apparence d'un dé à coudre (fig. 1).

L'enveloppe externe, d'un brun foncé, représente en somme une cupule très-profonde, largement ouverte en général, mais susceptible à l'occasion de se refermer et de s'arrondir sous la face buccale jusqu'à donner à l'animal une forme sphérique (fig. 3); elle est épaisse, très-compacte, et composée d'un feutre impénétrable et serré de particules de nature organique, solidement cimentées les unes aux autres.

Sous cette première enveloppe, il doit en exister une autre, mais on ne la voit pas. Dans les autres espèces du genre, cette enveloppe



Diplochlamys Gruberi. — Fig. 1. L'animal en marche, vu par le côté. — Fig. 2. Individu vu par la face ventrale; au milieu, masse pseudopodique arrondie, non déployée. — Fig. 3. Individu arrondi en sphère, et fixé à une brindille végétale.

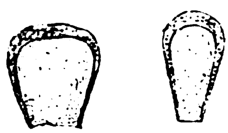
interne est déjà bien souvent à peine reconnaissable, mais on finit toujours, d'une manière ou d'une autre, par la distinguer, et par exemple, en faisant éclater l'individu, il est facile de la mettre en vue; mais ici, elle semble manquer, et aucune manipulation ne la fait apparaître.

Il faut qu'elle y soit cependant: même sans recourir à la simple analogie, qui ne nous permettrait guère de douter de la présence d'une membrane pelliculeuse interne dans un organisme que tous ses

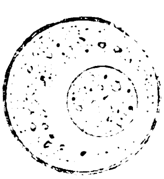
autres caractères réunissent au genre *Diplochlamys*, on peut quelquefois la deviner, ou même l'entrevoir, grâce à l'apparition de stries radiaires vaguement mais certainement dessinées sur la face ventrale, ou bien au contour reconnaissable d'une ouverture buccale circulaire; ou bien enfin à la présence de cette masse arrondie et nette, qui semble une sphérule centrale, et représente en réalité, comme nous l'avons vu dans la *Diplochlamys vestita*, un magma pseudopodique légèrement en saillie au centre de l'ouverture invaginée (fig. 2).

A travers l'enveloppe, on ne voit presque rien du plasma, sauf en arrière son contour arrondi, souvent séparé de la paroi qui l'abrite par un espace assez considérable (fig. 1); et je ne puis parler d'une manière sérieuse que du noyau, toujours unique, de 13 μ de diamètre, et qui, lui aussi, revêt ce type commun à toutes les espèces du genre, une membrane assez forte, un suc nucléaire parsemé de granulations accumulées surtout sous la membrane, et un nucléole unique, subcentral (fig. 5).

Ce noyau est normalement excentrique dans le plasma; on le trouve, il est vrai, au voisinage du fond de l'enveloppe, mais il y est rejeté sur le côté, ou plutôt, faudrait-il dire, en arrière, car pendant la reptation, on peut distinguer entre une face antérieure de l'enveloppe, indiquée par la position du pseudopode qui semble prolonger le corps comme un bec (fig. 1), et une face postérieure au voisinage de laquelle est le noyau. En même temps, l'enveloppe a une tendance à revêtir une forme un peu particulière, allongée suivant l'axe antéro-postérieur, comprimée suivant l'axe latéral (fig. 4).



4



5

Diplochlamys Gruberi.
Fig. 4. Forme assez fréquente que prend l'enveloppe pendant la marche, à gauche, vue de côté; à droite, vue suivant l'axe antéro-postérieur. — Fig. 5. Noyau.

Nous venons de parler des pseudopodes comme si leur existence ne faisait pas l'ombre d'un doute; et pourtant, je n'ai jamais réussi à les voir d'une manière positive sur le vivant; l'animal se rencontre presque toujours solidement collé par sa face buccale à quelque fibre végétale, etc., et semble ramper à la manière d'une patelle. Mais en laissant reposer pendant quelques heures une portion de la récolte, recouverte d'une nappe d'eau réduite au minimum possible, au fond d'une large éprouvette, puis en arrosant brusquement le tout

d'un flot d'alcool absolu, et enfin en colorant, traitant à l'essence de girofle et examinant sous le couvre-objet, on arrive à se procurer un nombre assez considérable d'individus qui sans doute étaient en marche lorsque l'alcool les a surpris, et qui montrent, coloré en rose clair, le pseudopode en question; ce pseudopode, du reste, mérite à peine ce nom; c'est une masse unique, large, qui se développe en avant du corps comme le pied d'une anodonte fouillant la vase.

La *Diplochlamys Gruberi* n'est pas très-rare dans les mousses, surtout dans les mousses sèches qui garnissent le tronc des arbres.

Cet organisme rappelle, à première vue, un rhizopode que Gruber a décrit en 1883 sous le nom de *Amoeba obtecta*[1]); il le rappelle de si près même, que pendant longtemps j'ai cru devoir rapporter à cette espèce l'animal que je venais de trouver. Mais après des recherches plus sérieuses, je n'hésite plus aujourd'hui à y voir autre chose; l'*Amoeba obtecta* de Gruber, trouvée d'ailleurs dans un aquarium d'eau de mer, est beaucoup plus petite que la nôtre, variant de 30 à 40 μ en longueur; de plus, l'enveloppe est certainement d'une nature toute différente; elle est formée „aus einer schleimigen Substanz von gelblicher Farbe, die im Wasser immer mehr zu erhärten scheint. Der innerste Teil der Hülle . . . . ist der konsistenteste und am dunkelsten gefärbte; er bildet das eigentliche Gehäuse, während um ihn her noch eine unregelmäßige Zone der gelblichen Substanz liegen kann, an welcher viele Körnchen und sonstige Fremdkörper festkleben“.

En 1902, par contre, j'ai assimilé à l'*Amoeba obtecta* de Gruber un rhizopode trouvé dans les marécages aux environs de Genève (décrit sous le nom de *Parmulina obtecta* Faune Rhizopodique, p. 209), et qui rappellerait également d'assez près la *Diplochlamys Gruberi*. Je ne l'ai plus revu depuis.

Peut-être, en terminant le chapitre qui concerne les *Diplochlamys*, ne sera-t-il pas hors de propos de donner, sous forme de tableau

[1]) Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 38 Heft 1 p. 54 pl. II fig. 12—16. — Je prends la liberté d'appliquer à la *Diplochlamys* actuellement en cause le nom du professeur de Freiburg, si connu par ses excellentes études sur les Rhizopodes, études auxquelles, malheureusement, il semble avoir depuis assez longtemps renoncé.

comparatif, un résumé des caractères différentiels propres aux formes, aujourd'hui connues. Nous en avons considéré cinq qui toutes me paraissent avoir rang d'espèces bien caractérisées; mais peut-être tous les naturalistes ne seront-ils pas de mon avis, et plus d'un parmi eux considérera-t-il ces cinq espèces décrites comme n'en constituant en réalité qu'une seule. Ce fait, s'il était juste, serait en lui-même du plus haut intérêt; nous aurions alors, dans la *Diplochlamys*, un protiste éminemment variable, ou plutôt en cours d'une évolution déjà presque achevée, et dirigée nettement vers la délimitation d'espèces autonomes. Mais, à mon avis, cette évolution est terminée, ou tout au moins, ces cinq formes sont fixées déjà. Il est bon, cependant, de retenir le fait que les *Diplochlamys* constituent un genre très-naturel, et dont les différents représentants spécifiques revêtent des traits communs qui montrent une parenté très-rapprochée; le noyau, par exemple, qu'il soit unique et grand dans telle ou telle espèce ou qu'il y en ait des centaines de très-petits dans une autre, revêt toujours, en définitive, le même type, assez rare dans la série des Rhizopodes: nucléole subcentral, et forte accumulation de poussières ou granulations au sein du suc nucléaire.

Parmulina cyathus Penard.[1])

Le genre *Parmulina* a été créé pour des „Amibes entourées d'une membrane en forme de coupe, sans dessins ou ponctuations symétriques, revêtue de débris agglutinés qui peuvent arriver à former un véritable feutrage". Dans le prototype du genre, *Parmulina cyathus*, je parlais alors d'une „coquille hémisphérique, transparente, à peine jaunâtre, chitinoïde, et rigide", que l'on pouvait comparer „à l'une des moitiés d'un ballon de verre coupé par le milieu".

Eh bien! les choses sont tout autres en réalité; cette coquille, qui rappelait par sa forme le petit bouclier rond ou *Parmula* des soldats romains, n'est pas hémisphérique en réalité; la forme de coupe arrondie ne concerne que les coquilles des animaux malades ou morts, qui parfois, lorsque la récolte n'a pas été examinée tout de suite, constituent la presque totalité des individus rapportés; le plasma, trop brusquement imbibé d'eau, a probablement, en se gonflant, distendu l'enveloppe, et plus tard cette dernière est restée à cet état de distension (fig. 6 et 7). En 1902, j'avais eu affaire à des animaux malades ou morts.

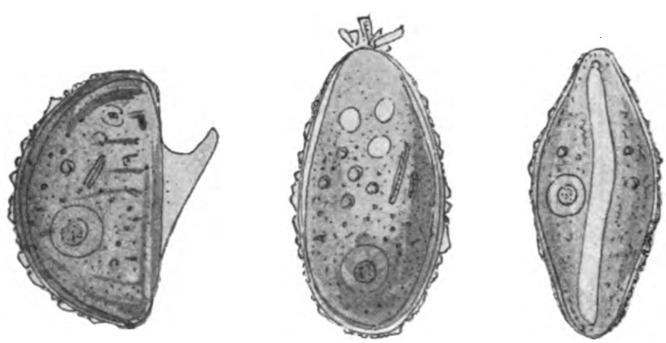
[1]) Faune rhizopodique du Bassin du Léman. Genève 1902 p. 207.

Principaux caractères différentiels dans le genre *Diplochlamys*.

	D. Leidyi.	*D. fragilis.*	*D. timida.*	*D. vestita.*	*D. Gruberi.*
Taille moyenne	?	90 μ	45 μ	100 μ	65 μ
Forme	hémisphérique-cupuliforme	hémisphérique, en cupule profonde	hémisphérique, en cupule très-profonde	hémisphérique, en cupule peu profonde	en cupule très-profonde, presque en forme de dé à coudre
Enveloppe externe	Surtout particules de terre et de sable	revêtement lâche, mélange de particules organiques et siliceuses	revêtement serré, formé exclusivement de particules organiques non arrondies en boulettes	revêtement serré, formé exclusivement de boulettes de nature organique, préparées par l'animal	feutrage épais et très-compact, formé de particules organiques solidement cimentées
Couleur de l'enveloppe	?	gris sale tacheté de noir	gris jaunâtre clair, devenant brune plus tard	jaunâtre	brune
Enveloppe interne.	bien visible, à saillie très-forte	bien visible, très-délicate, bien que plutôt épaisse	bien nette, mince, résistante, profondément invaginée	peu nette, peu invaginée	invisible
Nombre des noyaux	1 à 20	30 à 40 en général	un seul	plus de 100 en général	un seul
Diamètre des noyaux	?	6 μ	$7^1/_2$ à 10 μ	3 à 5 μ	13 μ

Tout récemment, en examinant à nouveau la *Parmulina cyathus* dans la localité même d'ou provenaient les exemplaires de 1902, puis aussi dans deux ou trois autres stations, j'en suis arrivé à des conclusions différentes, qui me permettent de donner de cette espèce une description plus exacte.

L'enveloppe, de 45 à 55 μ de longueur, d'un gris sale ou légèrement jaunâtre, relativement épaisse et de nature chitineuse, et rendue rugueuse par des particules de toute sorte collées à sa surface en nombre plus ou moins considérable, revêt à peu près la forme d'une petite nacelle. Vue de côté (fig. 1), sa courbe dorsale décrit un demi-cercle, et l'on croirait avoir affaire à une coquille patelliforme; mais en coupe transversale (Fig. 4), la figure devient celle que donnerait la section d'un bateau, ou bien aussi, quand les bords se sont reployés de manière à fermer la face ventrale, cette section serait à peu près celle que fournirait un noyau de datte.


1 2 3

Parmulina cyathus. — Fig. 1. L'animal vu de côté. — Fig. 2. Un autre, vu d'en haut, par la face dorsale. — Fig. 3. Un autre, vu d'en bas, par la face orale.

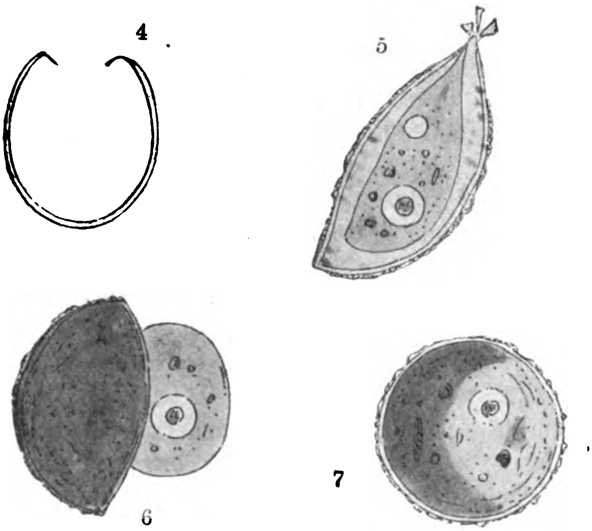
Vue d'en haut, par la face dorsale (fig. 2), l'enveloppe est fusiforme, souvent un peu étirée dans une région qu'on peut appeler antérieure, par opposition à une partie postérieure plus arrondie. Examinée par la face ventrale (fig. 3), le premier aspect est encore à peu près le même, mais on finit bientôt, si les conditions d'examen sont favorables, par y constater l'existence d'une ligne médiane longitudinale, ou, plus souvent, de deux lignes parallèles, et qui sont l'indice d'une fermeture plus ou moins complète de l'enveloppe.

En résumé, l'enveloppe de la *Parmulina cyathus* revêt quelque analogie, tout au moins de structure, avec celle du genre *Corycia* (*C. flava*, etc.); mais ici elle est bien plus épaisse, presque rigide, sauf sur une bande étroite de la région ventrale, où elle est amincie

et souple. Au lieu du sac à larges plis caractéristique des *Corycia*, c'est ici plutôt quelque chose qui rappellerait la carapace dorsale de l'écrevisse.

Existe-t-il une enveloppe interne, comme dans le genre *Diplochlamys?* C'est probable; on ne la voit pas, il est vrai, mais certaines apparences, par exemple la ligne franche et nette qui limite le plasma gonflé sur les animaux morts (fig. 6), ou bien l'apparence de „kyste“ que prend dans certaines conditions le corps en boule sous la carapace, me ferait croire à l'existence d'une pellicule très-fine.

Le plasma reste toujours peu distinct sous l'enveloppe; expulsé au dehors par compression, on le voit rempli de poussières ou granulations extraordinairement petites, puis il renferme quelques parcelles de nourriture, quelques grains d'amidon ou d'excrétion, etc.



Parmulina cyathus. — Fig. 4. Coupe transversale de l'enveloppe. — Fig. 5. Individu vu de côté, avec quelques petites pierres à l'extrémité antérieure de l'enveloppe. — Fig. 6. Individu mort, vu de côté; le plasma est sorti, arrondi en boule, et probablement limité par une pellicule. — Fig. 7. Un autre individu mort, comme dans la fig. 6 mais vu par la face ventrale; l'enveloppe, dilatée, est devenue hémisphérique.

On y voit aussi, même sur le vivant et par transparence, une ou plusieurs vésicules contractiles, puis un noyau, toujours unique, de 8 μ de diamètre, avec un nucléole central arrondi, de volume plutôt faible, et entouré d'une large zône de suc nucléaire. Ce noyau se trouve, en règle générale, un peu excentrique dans sa position, et dans une région du plasma qu'on peut appeler postérieure.

En effet, cette extrémité de l'enveloppe généralement un peu étirée, plus claire, plus mince, que nous avons mentionnée plus haut, correspond très-probablement à une partie antérieure du corps; c'est là que, de préférence, se trouvent les vésicules contractiles; c'est là qu'on voit des amas de petites pierres agglutinées; c'est par là que le corps, légèrement étiré en pointe ou en forme de bec (fig. 5), se fixe solidement à des fibres végétales, etc., ou même au porte-objet sur lequel on vient de transporter l'animal.

Quant aux pseudopodes, je n'ai jamais réussi à en distinguer sur le vivant la moindre trace. Probablement, comme dans la *Diplochlamys Gruberi* , n'y en a-t-il qu'un d'ordinaire, qui fonctionnerait comme le pied d'une anodonte fouillant le limon; c'est ce que j'ai cru quelquefois pouvoir „deviner", et ce que semblerait indiquer la fig. 1, qui concerne un exemplaire trouvé dans l'essence de girofle, coloré au carmin; un autre individu, rencontré lui aussi dans les mêmes conditions, montrait un prolongement absolument analogue.

La *Parmulina cyathus* n'est pas très-rare, mais on n'en trouve généralement que peu d'individus dans une même récolte; je l'ai vue dans presque toutes les mousses examinées, mais mes observations ont porté presque exclusivement sur des récoltes faites à Veyrier (vieux mur), et sur une autre provenant d'une haie à Chougny.

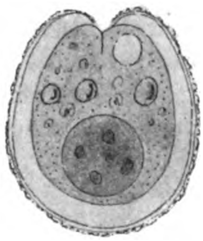
Capsellina bryorum gen. nov. spec. nova.

Nous avons affaire ici à un très-petit organisme, de 35 à 40 μ en longueur, et qui, bien rarement, atteint à une mesure maximale de 45 μ.

La forme est à peu près ovoïde, une fois et demi environ aussi longue que large, et le corps se montre un peu comprimé sur les côtés, de sorte qu'une coupe transversale donnerait une figure elliptique (fig. 3); très-rarement, on rencontre des individus dont la forme se rapprocherait de la sphère.

Le corps est protégé par deux enveloppes, l'une externe, grisâtre ou d'un brun chocolat clair, membraneuse en apparence, et douée d'une certaine souplesse, mais en réalité formée de particules très-petites, chitineuses ou aussi siliceuses, et agglutinées de manière à former un mince revêtement feutré, rendu plus ou moins rugueux à sa surface par la présence de petits fragments siliceux qui s'y sont collés. A la face antérieure, cette enveloppe granuleuse s'ouvre en une fente allongée, ou plutôt laisse à nu une plage rectangulaire-linéaire, qui encadre la fissure buccale proprement dite dont il va être question (fig. 3).

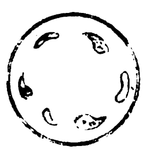
L'enveloppe interne, transparente, d'un gris perle, est très-fine, souple et déformable; c'est une pellicule, enfin, telle que nous l'avons vue dans le genre *Diplochlamys*; ici également, cette pellicule se voit dans la règle reployée à la bouche, et alors non plus avec plissements radiaires et invagination centrale, mais sur un seul plan d'enfoncement, qui dessine à la vue un simple trait droit (fig. 1). La pellicule, en un mot, semble former deux lèvres, qui s'invaginent l'une contre l'autre, et sont susceptibles, par leur rapprochement réciproque, d'effectuer une fermeture hermétique; les commissures, ou extrémités de cette fente linéaire, se terminent abruptement, et parfois il m'a semblé les voir aboutir à un petit élargissement circulaire, qui jouerait ici le même rôle que, par exemple, les deux



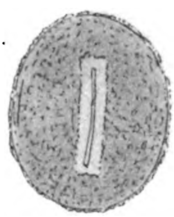
1



2



4



3.

Capsellina bryorum. — Fig. 1. Individu vu par le côté large (d'après une préparation colorée au carmin; le plasma est fortement contracté). — Fig. 2. Un autre, vu à peu près de trois quarts. — Fig. 3. Un autre, vu d'en haut, par la face orale. — Fig. 4 Noyau.

trous qu'on perce aux extrémités de la fente d'une courroie pour empêcher cette fente de se prolonger trop facilement; mais ces derniers détails de structure sont extraordinairement difficiles à distinguer, et je ne les indique que sous toutes réserves; ici il faut faire la part de l'imagination, qui ne peut que trop facilement induire en erreur.

Sur un individu que l'on examine par son côté large, cette fente buccale se voit comme un trait clair (fig. 1), très-droit, bien marqué; sur une vue de trois quarts, on distingue deux lignes courbes (fig. 2),

dont l'une indique la bordure gauche, l'autre la bordure droite, de la fissure. Très-rarement la membrane, au lieu d'être invaginée, se voit au contraire prolongée en bec.

A l'intérieur de cette enveloppe hyaline, le plasma renferme une ou plusieurs vésicules contractiles, souvent très-volumineuses, puis, en général, un nombre considérable de petits grains brillants, incolores, sphériques, disposés près de la surface, et qu'à un faible grossissement on prend volontiers pour des perles en relief sur la membrane. On voit également des granulations jaunes ou vertes, parcelles de nourriture enfermées dans des vacuoles, et toujours très-petites, en corrélation sans doute avec l'étroitesse excessive de la fente buccale. Le plasma renferme encore quelquefois des gouttelettes de nature huileuse, puis, assez fréquemment, une grosse masse d'un gris mat, dont la signification m'échappe; cette masse pâle doit cependant avoir une certaine importance, car lors des phénomènes de division, elle se divise elle-même et passe par moitié dans chacun des nouveaux individus (fig. 6). Ce n'est pas une chromidie, car le carmin ne la colore nullement; peut-être représenterait-elle un élément nutritif de réserve?



Capsellina bryorum. — Fig. 5. Division (exemplaire coloré au carmin); dans chacun des nouveaux individus, on voit la masse pâle caractéristique. — Fig. 6. Autre exemple de division, moins avancée.

Tout en arrière se trouve le noyau, qui dans cette espèce est d'un volume tout-à-fait extraordinaire, de 16 à 18 μ; à lui seul il remplit un tiers au moins de la capacité de l'enveloppe.

Ce noyau (fig. 4), à membrane fine, renferme un nombre restreint de nucléoles, 3 à 6 en général, souvent allongés ou presque vermiformes, irrégulièrement disposés au sein d'un suc nucléaire très-clair et pur, presque limpide.

Je n'ai pas pu constater d'une manière certaine la présence de pseudopodes; une seule fois, j'ai cru voir une touffe de filaments très-minces, qui sortaient d'un petit groupe de pierres collées à la bouche; mais à ce moment même un courant produit par quelque rotifère rejeta la *Capsellina* dans le détritus où elle disparut à ma vue. Quelquefois cependant j'ai trouvé, dans l'essence de girofle, et

après les réactifs colorants, des exemplaires chez lesquels on voyait quelques traînées de plasma rosé pénétrer entre des particules collées devant l'ouverture buccale. Les pseudopodes, s'ils existent comme on est en droit de le croire, seront sans doute filiformes, à en juger par l'ouverture presque imperceptible de la fente buccale.

A plusieurs reprises j'ai rencontré des individus en cours de division, mais jamais sur le vivant; ici encore, la division doit commencer par un sillon buccal, qui s'enfonce toujours plus; les figures 5 et 6 montrent les deux cas les plus typiques que j'aie pu examiner; dans la fig. 5, on voit les deux individus presque complètement séparés, reliés seulement l'un à l'autre par la partie postérieure de l'enveloppe externe, laquelle s'étire et se désagrége; à la bouche, où la pellicule est déjà légèrement reployée en dedans, on voit chacun des individus pourvu d'une petite pierre, comme, dans cette espèce, les animaux aiment à en amasser; chacun possède aussi la masse pâle dont il vient d'être question. Dans la fig. 6 la division est moins avancée; on y remarque également cette même masse, qui semble appartenir aux deux individus à la fois, et probablement est elle-même en cours de division.

La *Capsellina bryorum* n'est pas très-rare, et je l'ai vue dans la plupart des stations visitées; comme elle est très-petite et rappelle d'abord tout autre chose qu'un rhizopode, par exemple un grain de pollen, etc., elle échappe le plus souvent à l'attention.

On pourrait cependant se demander si nous avons bien là un rhizopode en effet; tant que les pseudopodes ne se seront pas montrés, on a le droit d'être sceptique; mais, d'après moi, c'est à peine si le doute est possible: la forme, la structure de l'enveloppe, le plasma avec ses granules de nourriture, le noyau, l'accumulation d'un bouquet de pierres à la bouche, tout est d'un rhizopode; et les phénomènes de division, tels qu'on ne saurait trop à quel autre groupe les rapporter, suffiraient à eux seuls pour montrer là un sarcodiné.

A propos de *Gromia terricola* Leidy.

En 1837, Dujardin[1]) décrivait un foraminifère d'eau douce, *Gromia fluvialis* (dont il fait en 1841 *Gromia fluviatilis*), trouvé dans la Seine, sur des *Ceratophyllum*; en 1874, Leidy[2]) indiquait également un représentant de ce genre, *Gromia terricola* (décrit plus au long

---

[1]) Ann. Sci. nat. (ser. 2) v. 8 p. 312 1837.

[2]) Proc. Acad. Nat. Sci. Philad. p. 88 1874.

en 1879, Freshwater Rhizop. of North America, p. 277) et dont il avait récolté quelques exemplaires dans les mousses, entre les pavés d'une cour à Philadelphie.

Plus tard, en 1902 [1]), je retrouvais moi-même, aux environs de Genève, et, comme Dujardin, dans une mare à *Ceratophyllum*, un unique spécimen d'une Gromie qui me parut devoir se rapporter, en même temps à la *Gromia fluvialis* de Dujardin, et à la *Gromia terricola* de Leidy.

En 1907 enfin [2]), à propos d'une étude sur le genre *Lieberkühnia*, je disais: „Il n'est pas inutile de remarquer que dans les deux Gromies sphériques que nous connaissons, *Gr. fluvialis* Duj. et *Gr. terricola* Leidy, aucun observateur n'a pu s'assurer d'une manière évidente de la présence d'une ouverture buccale. Après mes expériences de cette année, je ne serais pas éloigné d'expliquer ces résultats négatifs en disant que ces deux Gromies, *fluvialis* et *terricola*, ne sont pas en réalité des *Gromia*, mais bien des *Lieberkühnia*, chez lesquelles, comme dans la *Lieberkühnia paludosa* sphérique, la bouche est réduite à une fente presque toujours cachée à la vue, et le pédoncule pseudopodique à un ruban plus indistinct encore."

Ces conclusions étaient motivées, d'abord par le nombre considérable de représentants des *Lieberkühnia paludosa* Cienkowsky [3]) et *L. Wageneri* Clap. et Lachmann [4]) que j'avais rencontrés, dans lesquels l'ouverture de l'enveloppe restait presque totalement cachée, puis ensuite par le fait que, peu de temps auparavant, j'avais trouvé dans des mousses sèches un représentant, unique mais bien typique, de la *Gromia terricola* de Leidy, et sans ouverture visible; mais alors, en faisant éclater l'enveloppe, j'en avais vu sortir un nombre considérable de noyaux, de 6 μ chacun, et positivement identiques à ceux de *Lieberkühnia Wageneri*. Or, bien que Leidy indique que sa Gromie contenait un „nucléus grand, clair ou pâle, central ou excentrique", il est possible, si l'on s'en rapporte aux figures, que l'auteur américain n'ait vu, plutôt qu'un noyau, qu'une grande vacuole (ou bien aussi, c'était le noyau unique de la *Lieberkühnia paludosa* qu'il avait sous les yeux? mais j'ai peine à le croire).

Cette année, mes mousses des vieux murs, à Veyrier, à Chougny, et ailleurs encore, m'ont permis d'étudier tout à mon aise ce même foraminifère, qui correspond jusque dans ses moindres détails à la *Gromia*

[1]) Faune rhizopodique du Bassin du Léman p. 555 1902.
[2]) Arch. f. Protistenk. Bd. VIII fasc. II p. 228 1907.
[3]) Arch. f. mikr. Anatomie Bd. XII p. 32 pl. 6 1876.
[4]) Mém. Inst. Genève vol. 6 p. 465 pl. 23 1859.

terricola de LEIDY, et que pourtant il m'est impossible de séparer de la *Lieberkühnia Wageneri;* même forme, même taille, même plasma, mêmes noyaux.[1]) C'est, en fait, la *Lieb. Wageneri;* mais, nous pouvons l'ajouter, nous la voyons dans les mousses sous une forme un peu spéciale, un peu différente du type aquatique; l'enveloppe paraît moins lisse, elle est plus amplement recouverte de particules siliceuses, agglutinées à sa surface; le corps conserve plus volontiers la forme sphérique ou ovoïde, qui en principe est d'ailleurs aussi celle de la *Lieberkühnia Wageneri* aquatique, mais qui dans cette dernière s'allonge facilement pendant la marche; le pédoncule pseudopodique est encore plus caché, l'ouverture buccale presque toujours impossible à distinguer, sauf sur des individus qui se présentent dans les conditions les plus favorables, le pédoncule se trouvant par exemple juste sur le côté (fig. 1).

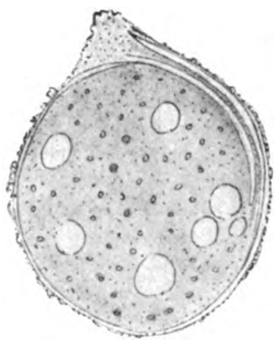


Fig. 1.
Lieberkühnia fluvialis (DUJARDIN). Individu disposé de manière à mettre le pédoncule pseudopodique en vue. En réalité, on ne l'aperçoit en général que très difficilement.

Ces derniers détails différentiels suffiraient peut-être pour nous faire distinguer une variété ou race, propre aux mousses sèches, opposable à une race aquatique plus déformable et plus transparente; mais il n'y a pas là deux espèces, et à plus forte raison pas deux genres différents.

La *Gromia terricola* de LEIDY n'est donc pas autre chose que la *Lieberkühnia Wageneri* de CLAPARÈDE et LACHMANN[2]); et, il faut le dire, à mon avis la *Lieberkühnia Wageneri* n'est à son tour que la *Gromia fluvialis* de DUJARDIN; mais alors, en raison de la présence d'un pédoncule, la *Gromia fluvialis* n'est pas une Gromie vraie, c'est une *Lieberkühnia.*

Peut-être donc faudrait-il dire aujourd'hui:

Lieberkühnia fluvialis (DUJARDIN)
syn. *Gromia fluvialis* DUJARDIN
„ *Lieberkühnia Wageneri* CLAP. et LACHM.
„ *Gromia terricola* LEIDY.

---

[1]) Je ne donne aucune description; ce serait faire double emploi avec les pages 250 à 258 des Arch. f. Protistenk., au volume cité.

[2]) A moins, ce qui est peu probable en raison de la faible taille indiquée par LEIDY, que cet auteur ait trouvé la *Lieberkühnia paludosa* de CIENKOWSKY.

C'est bien là mon idée; mais probablement ne sera-t-elle pas acceptée de tous, et, en définitive, avant de l'adopter il serait bon de soumettre tous ces foraminifères d'eau douce à un contrôle serré.

Bibliographie.

1) Ehrenberg, G.: Die Infusionstierchen als vollkommene Organismen. Berlin 1838.
2) Dujardin: Histoire naturelle des Zoophytes infusoires. Paris 1841.
3) Perty, M.: Zur Kenntnis kleinster Lebensformen in der Schweiz. Bern 1852.
4) Dujardin: Note sur les Infusoires vivant dans les mousses. Ann. des Sci. Nat. Sér. III Zool. tom. 18 1852.
5) Greeff, R.: Über in der Erde lebende Amöben und andere Rhizopoden. Arch. f. mikr. Anat. Bd. II p. 299 1866.
6) Gagliardi: Rhizopods in London. Quart. Journ. Micr. Sci. p. 80 1871.
7) Ehrenberg, G.: Die zweite deutsche Nordpolfahrt in den Jahren 1869—70. Bd. II p. 437—466. Leipzig 1874.
8) Greeff, R.: Studien über Protozoen. Land-Protozoen. Sitz.-Ber. d. Ges. z. Beförd. d. ges. Naturw. Marburg No. 3 p. 90—158 1888.
9) Maggi, L.: Intorno ai Protozoi viventi sui muschi delle piante. Rendic. Ist. Lomb. Ser. II vol. XXI fasc. VI 1888.
10) Greeff, R.: Über den Organismus der Amöben. Biol. Centralbl. Bd. XI No. 19 p. 599—639 1891.
11) Scourfield, D. G.: Freshwater Rhizopods from Spitzbergen. Proc. Zool. Soc. London 1897.
12) Penard, E.: Faune rhizopodique du Bassin du Léman. Genève 1902.
13) —: Notice sur les Rhizopodes du Spitzberg. Arch. f. Protistenk. Bd. II p. 238—282 1903.
14) —: Observations sur les Amibes à Pellicule. Arch. f. Protistenk. Bd. VI p. 175—206 1905.
15) Awerinzew, S.: Über einige Süßwasser-Protozoen der Bäreninsel. Zool. Anz. Bd. 31 No. 8 p. 243—247 1907.
16) —: Über die Süßwasser-Protozoen der Insel Waigatsch. Zool. Anz. Bd. 31 No. 9/10 p. 306—312 1907.
17) Penard, E.: On some Rhizopods from the Sikkim Himalaya. Journ. R. Micr. Soc. p. 274—78 1907.
18) Heinis, F.: Beitrag zur Kenntnis der Moosfauna der Kanarischen Inseln. Zool. Anz. Bd. 33 No. 21 p. 711—16 1908.
19) Murray, James: Note on microscopic life in Gough Island. Proc. of the Royal. phys. Soc. Edinburgh vol. 17 No. 4 p. 127—29 1908.

-t-elle pas
rait bon de
rôle serré.

Berlin 185
Bern 1862
es Sci. Nat.
len. Arch.
71.
1869–72
d. Ges. z
endic. Ist.
XI No. 19
Zool. Sc.
II p. 238
I p. 175
ol. Anz
Bd. 31
. Micr.
Zool.
Royal

Sporulation in the parasitic Ciliata.[1]

By
Ernest Linwood Walker, S. D.,
Assistant in Medical Zoölogy.

From the Laboratory of Comparative Pathology.
Harvard University Medical School, Cambridge U. S. A.

(With Plate XIV and XV.)

The Ciliata, although the most highly organized of the Protozoa, exhibiting a differentiation of structure within a single cell that are appropriately designated organelles, have been general considered among the simplest in their reproduction. Binary fission, the most primitive of all forms of reproduction, has been supposed to constitute the sole method of multiplication in these organisms. A complicated process of conjugation, it is true, has been described by Bütschli, Hertwig, Maupas and others, in certain species; but this is purely a sexual process which involves no reproduction of the protozoon, except that a rejuvanescence or renewal of all the vital activities, including cell division, is believed to result from the act. Certain investigators, however, have seen indications of another method of reproduction in some of the parasitic species. Thus, Ekecrantz (1867), Lavorwskaya (1890), Ortman (1891), Bushnyeff (1897), Zhegaloff (1899), and others have observed minute forms of *Balantidium coli* in the intestine of man in balantidium dysentery, some of which were said to be non-motile, some amoeboid, and others

---

[1]) Read before the Ninth Annual Meeting of the American Association of Pathologists and Bacteriologists at Boston, Massachussets, April ninth and tenth, 1909.

ciliated. These authors are of the opinion that these small forms were derived by budding from the adult Balantidia, and some believe that they have observed stages in this process. Strong (1904), although he observed these small forms, was unable to satisfy himself that *Balantidium coli* multiplies by budding. In *Ichthyophthirius multifilis*, a holotrichiate ciliate parasitic in the skin of fresh water fishes, there has been described by Neresheimer (1907) and previously by others, a reproduction which takes place in individuals which have left the host and have become surrounded by a delicate cyst. A large number of small progeny, which are developed within the cyst, are set free and infect other fishes. In the light of what follows, these observations will be found to be significant.

In a parasitic ciliate of the genus *Nyctotherus*, which was under cultivation on artificial medium, certain appearances occurred from time to time that were suggestive of the process of sporulation which I have described recently, in the *Amoebae* (Walker 1908 a). These phenomena were at first disregarded as being of no significance, but finally so impressed me that a study of them was undertaken. Two species of the genus *Nyctotherus*, *N. parvus* n. sp. (see appendix) isolated from the intestinal tract of the frog and *N. multisporiferus* n. sp. from the intestinal tract of the guinea-pig, one species of the genus *Balantidium*, *B. falciformis* n. sp. from the intestinal tract of the frog, and one free-living ciliate of the genus *Colpoda* from an infusion of leaf-mould, have been studied in pure cultures on alkaline agar medium. Attempts to cultivate *Balantidium coli* from the intestine of the pig have failed, but one hundred sections of the intestine of a pig infected with this parasite and one hundred sections of the intestine of a man dead from balantidium dysentery have been available for study. What were undoubtedly stages in the process of sporulation about to be described, have also been observed in other free-living species, even in the specialised order Suctoria. It is, therefore, probable that this method of reproduction is widespread, if not universal, in the Infusoria.

By the application of bacteriologic methods to the study of these organisms, it has been possible to eliminate extraneous organisms that might be interpolated in the life-cycle of the ciliate, and to follow consecutively processes that otherwise must be deduced from disconnected observations. These methods have already been described in a previous paper (Walker 1908 b) and, therefore, will not be described here in detail. It will be sufficient to say that the ciliates have been isolated and grown in pure culture with pure

cultures of bacteria, the so-called pure mixed cultures, on a medium of 2 parts of agar, 100 parts distilled water, and 1 part of a normal solution of sodium hydrate. The cultures are inoculated into the water of condensation on the surface of the solidified medium in slanted tubes, in Petri dishes and on coverglasses (WALKER 1908 b). In consequence of the relatively large size of the ciliates, the life-cycle of these protozoa can be followed in Petri plate cultures by inverting the Petri dish on the stage of the microscope. The details of sporulation have been studied in cultures on cover-glasses by the "hanging-plate" method (WALKER 1908 a), in which the culture can be under constant observation with the oil immersion objective. By transplanting single ciliates to these cover-glass cultures by the capillary tube method (OGATA 1893; WALKER 1908 b), it has been possible to follow the whole process of sporulation in a single ciliate, or in the first few generations of its progeny, uncomplicated by the presence of other ciliates in the culture. The application of these methods to the solution of the problem under consideration is best illustrated by a few examples taken from my notes:

Culture No. 11. December 21, 1907, one *Nyctotherus multisporiferus* transplanted to a culture on a cover-glass. December 23, seven non-sporulating Nyctotheri, one pair of conjugating Nyctotheri, two sporocysts still containing a few spores, and many free spores are present in the culture.

Culture No. 21. December 26, 1907, one non-sporulating Nyclotherus transplanted to a culture on a cover-glass. December 28, one active Nyctotherus filled with spores and one mature sporocyst which is ruptured and from which the ripe spores are escaping, present in the culture.

Culture No. 57. December 31, 1907, one Nyctotherus containing spores transplanted to a culture on a cover-glass. January 1, 1908, the culture contains only a disintegrating sporocyst with the liberated spores.

Culture No. 198. August 18, 1908, one non-sporulating Nyctotherus transplanted to a culture on a cover-glass. August 19, four sporulating Nyctotheri are present in the culture. August 20, twenty-three sporulating and several non-sporulating Nyctotheri, and a few free spores are present in the culture. August 21, the culture contains many free spores in different stages of development, five of which are actively motile. August 22, many free spores in different stages of development, large motile spores, and young Nyctotheri of various sizes present in the culture.

These are a few examples of cultures on cover-glasses in which the process of sporulation has been successfully followed. However, it should be said that they are selected from hundreds of such cultures, in the majority of which sporulation either did not take place or aborted at some stage.

By floating the cover-glass culture on the surface of fixing fluid any desired stage of the culture can be fixed for staining. Zenker's fluid has been used almost exclusively for this purpose. Preparations fixed by this method have been treated and stained wet like sections. A variety of stains have been employed. Mallory's ferric chloride haematoxylin has been found a most satisfactory stain, and it has been used extensively. It stains nuclei spores and protoplasmic structures with varying intensities. Alum haematoxylin, either full strength, in which the preparations are stained from five to ten minutes, or better in very dilute solution in distilled water. in which the preparations are stained twelve to twenty-four hours, has given even better results. Alum carmine has proved a very precise stain for the nuclei of the ciliates, staining the macronucleus distinctly, the micronucleus intensely, and the cytoplasm feebly or not at all.

Sporulation in the parasitic ciliates occurs in the host under conditions and with a frequency that are at present little known. There is some evidence, however, that it takes place there more frequently than in cultures on artificial media. This appears to be the case in *Nyctotherus parvus*, which shows abundant sporulation in fresh material from the intestine of frogs, or during their multiplication in the intestinal contents on the culture medium, but which sporulate infrequently in pure cultures. In sections of the intestine of a pig, in a case of hog cholera, in which *Balantidium coli* are present in large numbers, but only in the exudate at the points of ulceration, I have been able to find but little evidence of sporulation; while in sections of the intestine of a man in a case of balantidium dysentery, in which the Balantidia have penetrated deep into the submucosa and, multiplying, have formed "nests" of the parasites in the tissue, I have found nearly all stages of sporulation including free spores and young Balantidia (Plate XV Figs. 7—9).

In cultures on artificial media sporulation varies with the species, under different conditions, and at different times. It occurs rarely in *Nyctotherus parvus*, moderately frequent in *Balantidium falciformis*, and relatively frequent in *Nyctotherus multisporiferus*; but the process is subject to much variation which appears to be irre-

gular rather than periodic. When sporulation occurs in a culture it is apt to be epidemic, involving the greater proportion of the ciliates in the culture. It takes place only in freshly transplanted cultures and never in old cultures. In cultures on artificial media there occurs a concentration of both protozoan and bacterial growth and of the products of their growth which are inimical to the vital activities of the citrates. By the time that sporulation is completed and the spores set free, these conditions have already inhibited further multiplication, and are causing encystment of the adult ciliates. It is, therefore, not surprising that they should prove unfavorable and even fatal to the development of the delicate spores. In consequence of this concentration of bacterial growth and products only a small proportion of the liberated spores develop into adult ciliates or artificial media.

The first evidence of sporulation is the appearance of small refractive granules in the cytoplasm of the active ciliate, which react to stains like chromatin (Figs. 1 and 7). These granules in twenty-four to forty-eight hours attain the size of several micra and appear as spheroidal or ovoidal bodies which more or less completely fill the ciliate (Figs. 2 and 8). During the growth of these spores, the ciliate becomes more and more distended, takes on a spheroidal shape and finally presents a mulberry-like appearance from the protuberance of the mature spores (Fig. 3). By carefully focusing the microscope on the living ciliate it can be seen that the spores are not distributed throughout the cytoplasm, but are arranged around the periphery of the sporoblast, the central mass being free from them as a residual body. In the meantime the sporulating ciliate has become less and less actively motile until, in the spheroidal stage, revolution on its own axis and finally only a turmoiling of its contents persists True encystment does not normally take place at this stage, but under adverse conditions it may occur. Development then ceases and the spores degenerate and are resorbed. The mature spores stain homogeneously with nuclear stains, and show neither nuclei nor chromatic granules. In certain preparations the spores do stain more intensely in certain regions about the periphery (Figs. 2 and 8). Such appearances have been described by Calkins (1907) and Prandtl (1907) in the reproductive bodies of certain Rhizopoda. I am inclined to look upon them as artifacts due to the vacuolization and condensation of the protoplasm of the spores. A more frequent result of imperfect fixation is a uniform contraction of the protoplasm about the periphery of the spore, the spore then appearing

as a stained ring. The spores may also contain bacteria which, in stained preparations, may be mistaken for chromatin granules.

The mature spores are set free by rupture or disintegration of the ripe sporocyst, of which the empty shell persists for a time in the culture surrounded by, and often containing, some of the spores. The liberated spores are delicate, homogeneous, motionless spherules which in *Nyctotherus multisporiferus* are 3—3,5 micra in diameter, and which stain feebly and uniformly with nuclear stains (Fig. 4).

Development of the spores takes place at once after they are set free, even in the shell of the broken down sporocyst (Fig. 5). It consists at first simply in an increase in size of the spores. In *Nyctotherus multisporiferus* they grow from 3—3,5 micra in twenty-four to forty-eight hours to 4—6 micra in diameter. At a little later period certain of the larger spherules (9—14 micra) exhibit independent movements, which are not like those of the adult ciliate but consist of revolving and dancing movements with little or no locomotion. They often contain an eccentrically placed vacuole that does not appear to be contractile and which may be so large that the young ciliate has in optical section the form of a signet ring. In stained preparations the cytoplasm of these young ciliates is no longer homogenous, it has now a reticulated structure, but it is still without nuclei (Fig. 6). This young ciliate gradually assumes the shape and movements characteristic of the adult and is provided with a macronucleus and a micronucleus.

The nuclear changes constitute one of the most interesting problems connected with sporulation in the Ciliata. In this class of protozoa the sexual and reproductive nuclear material is supposed to be collected in the micronucleus, apart from the trophic nuclear material in the macronucleus. It would, therefore, be expected that the micronucleus should furnish the chromatin to any reproductive bodies that might be developed in these protozoa. I have not been able, however, to observe any nuclear changes preceding the development of the spores. The absence of nuclei in the spores confirms the opinion that they do not arise through nuclear division. In the Rhizopoda and the Flagellata, the existence of extra-nuclear chromatin in the form of granules or "chromidia", d[illegible] nucleus and disseminated in the cytoplasm, and [illegible] reproductive bodies, has been demonstrated by [illegible] GOLDSCHMIDT and others. Whi[illegible] the origin of chromidia f[illegible] the ciliates, the f[illegible]

in the cytoplasm which react to stains like chromatin (Figs. 1 and 7) and which may be fairly compared with the chromidial granules described in the Rhizopoda and the Flagellata. From the uniform and rather feeble reaction of the spores to nuclear stains it would appear that the spores were developed from these chromidial granules, not by becoming surrounded by a layer of cytoplasm, but by growth of the granules in which there was an increase in achromatic stroma through which the chromatin was uniformly distributed. The organization of the nuclear apparatus of the adult ciliate from the diffuse chromatin of the spore has not yet been followed; but, from analogy with the nuclear changes that take place during conjugation, it would seem probable that the micronucleus is organized first from the chromatin of the spore, and that the macronucleus is derived by division from the micronucleus.

Another problem of considerable interest is that of the relation of sporulation to conjugation in the Ciliata. The sexual process in most plants and animals is followed by reproduction, and it might be supposed that sporulation constituted a reproductive process consequent to conjugation in the Ciliata. The relation of the two processes is somewhat obscured by what appears to be pseudo-conjugation in the cultures. The ciliates come together in twos, also in threes and fours, and present all the external appearances of conjugation, but in stained preparations no nuclear changes are apparent. This association of ciliates in pairs and larger groups often proves to be preparatory to encystment, the cysts containing two or more ciliates. Such pseudo-conjugants frequently contain spores which may be mistaken for the nuclear changes of true conjugation. While sporulation does appear to be more frequent in cultures that are active in conjugation, I have not been able to establish direct connection between the two processes. Single ciliates transplanted to cover-glass cultures or the first few subsequent generations by division sporulate in these cultures apparently without the intervention of conjugation. Neresheimer (1908) has described an autogamy between the micronucleus and the macronucleus in *Ichthyopthirius* which takes place previous to the development of the young ciliates in the cyst. I have never observed any nuclear changes in the parasitic ciliates that could be interpreted as such a sexual process.

A comparison of the process of sporulation just described in the Ciliata with that described recently by me in the Amoebae (Walker 1908 a) shows a correspondence in all essential points.

Sporulation in both groups of Protozoa takes place in the free and not in the encysted stage, apparently without the intervention of a sexual process, and is not preceded by nuclear division. The spores arise in both amoebae and ciliates from the chromidia in the cytoplasm, develop into non-nucleated spherules, are set free from the mother protozoon as non-motile spores, and develop directly into adult protozoa. The two reproductive processes are, I believe, homologous and perhaps indicate a closer genetic relationship between the Rhizopoda and the Infusoria than has hitherto been suspected.

Appendix.

1. *Nyctotherus parvus* n. sp. Body ovoid with a straight or slightly concave right border, flat in transection; 18—23 micra wide, 23—30 micra long; peristome beginning at the anterior and extending nearly to the middle of the right border, where it ends in a distinct notch, the cytostome; cytopharynx extending obliquely backward, less than one-third across the body; contractile vacuole single, situated at the posterior end; macronucleus round, 5,4—6,0 micra in diameter, situated near the middle of the body, composed of three small spherical masses of chromatin in an achromatic stroma; micronucleus small, oval or lenticular, contiguous to the macronucleus. Sporulation infrequent on artificial media; mature sporocysts spheroidal, 30—35 micra in diameter; spores numerous, 2—3 micra in diameter. Cysts circular in outline, 18—20 micra in diameter; walls at first one, later two, separated by a considerable space. Habitat: the large intestine of frogs, *Rana climata* Daudin and *R. palustris* Leconte.

2. *Nyctotherus multisporiferus* n. sp. Body lanceolate to ovoid with the narrow anterior end bent sharply to the right, flat in transection; 23—30 micra wide and 46—61 micra long; peristome extending along the concave border of the anterior end to the angle of flexure where the cytostome is situated; cytopharynx short, curved obliquely backward; contractile vacuole single, situated at the posterior end; macronucleus circular in outline, 7,5—9,0 micra in diameter, situated near the middle of the body, consisting of three elongated masses of chromatin coiled together and nearly filling the nucleus; micronucleus small, lenticular, contiguous to the macronucleus. Sporulation frequent on artificial media; mature sporocysts spheroidal, 30—55 micra in diameter; spores spheroidal, numerous, 3—3,5 micra in diameter. Cysts circular in outline; 23—42 micra

in diameter; walls at first one, later two, separated by a considerable space; contents granular. Habitat: isolated in culture from the intestinal tract of a guinea-pig, *Cavia cobaya.*

3. *Balantidium falciformis* n. sp. Body falciform; anterior end narrow and truncate obliquely to the right; oval in transection; 10—15 micra wide and 30—35 micra long; peristome extending along the truncate anterior end only; cytopharynx very short; contractile vacuole single, situated near the posterior end; macronucleus round to oval in outline, 3,8—4,6 micra in diameter, situated near the middle of the body or a little posteriorly; micronucleus small, lenticular, contiguous to the macronucleus. Sporulation moderately frequent on artificial media; mature sporocysts spheroidal, 20—30 micra in diameter; spores numerous, ovoidal, 2,3—3,8 micra in diameter. Cysts round; wall single; contents granular. Habitat: the large intestine of the frog, *Rana palustris* LECONTE.

References.

BUSHNYEFF, V. F. (1897): Kvoprosu and bolieznetvornosti, Balantidium coli. Voyenno-med. Journ. St. Petersburg, CLXXXVIII, Med. Spec. Pt. p. 167.

CALKINS, G. N. (1907): The fertilization of Amoeba proteus. Biol. Bull. XIII. 4, 219—228, Pl. XI—XII.

EKECRANTZ, W. (1867); Bidrag till kännedomen om de i menniskans tarmkanal foekommande infusorien. Nordisk medizinskt Archiv Stockholm I, 20, p. 1.

GOLDSCHMIDT, R. (1905): Die Chromidien der Protozoen. Arch. f. Protistenk. V, p. 126—144.

— (1907): Über die Lebensgeschichte der Mastigamöben. Sitz.-Ber. Ges. Morphol. u. Physiol. München XXIII, 1—6, 2 Fig.

HERTWIG, R. (1907): Über den Chromidialapparat und den Dualismus der Kernsubstanzen. Sitz.-Ber. Ges. Morphol. u. Physiol. München.

LAVROVSKAYA (1890): Sluchai Balantidii coli. Bolnitsch Gaz. Botknia St. Petersburg I, p. 302, 342.

NERESHEIMER, E. (1908): Zur Fortpflanzung eines parasitischen Infusors (Ichthyopthirius). Sitz.-Ber. Ges. Morphol. XXIII, 2, 102—106. Reft. Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk. etc. I. Abt., Ref. XLII, 14/16, 481—482.

OGATA (1903): Über die Reinkultur gewisser Protozoen (Infusorien). Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk. etc. I. Abt. XIV, 165—169.

ORTMAN, K. (1891): Über Balantidium coli. Berlin. klin. Wochenschr. XXVIII, 814.

PRANDTL, H. (1907): Der Entwicklungskreis von Allogromia sp. Arch. f. Protistenk. IX, 1, 1—21 Taf. I u. 5 Textfig.

SCHAUDINN, F. (1903): Untersuchungen über die Fortpflanzung einiger Rhizopoden. Arb. a. d. kaiserl. Gesundheitsamt XIX, 3, 547—576.

Strong, R. P. (1904): The clinical and pathological significance of Balantidium coli. Bureau of Gov. Lab., Biolog. Lab., Bull. No. 26, Manila. 77 p., 10 photomicr.

Walker, E. L. (1908a): The parasitic Amoebae of the intestinal tract of man and other animals. Journ. Med. Research XVII, 14, 379—459.

Walker, E. L. (1908b): The cultivation of the parasitic Flagellata and Ciliata of the intestinal tract. Jour. Med. Research. XVIII, 3, 487—495.

Zhegaloff, J. P. (1899): Sluchi Balantidium coli u. duvochki 5 liet. Klin. J. Mosk. 1, 44—57. Ibid., Jahrb. f. Kinderheilk. Leipzig, N. F. XLIX, 425.

Explanation of Plate.

Plate XIV and XV.

The figures in this plate are reproductions of photomicrographs made by Mr. L. S. Brown of the Clinico-Pathological Laboratory of the Massachusetts General Hospital.

Fig. 1. *Balantidium falciformis* n. sp. Chromidial or early sporulating stage. Stained with alum haematoxylin. × 1500.

Fig. 2. *Balantidium falciformis* n. sp. Later or more mature sporulating stage. Stained with alum haematoxylin. × 1500.

Fig. 3. *Nycthotherus multisporiferus* n. sp. Mature sporocyst filled with spores. Stained with Mallory's ferric chloride haematoxylin. × 1500.

Fig. 4. *Nyctotherus parvus* n. sp. Free spores. Stained with Mallory's ferric chloride haematoxylin. × 1000.

Fig. 5. *Nyctotherus multisporiferus* n. sp. Free spores surrounded by the remnant of the broken down sporocyst. The spores have begun to develop and are considerably enlarged. Stained with alum haematoxylin. × 1500.

Fig. 6. *Nyctotherus multisporiferus* n. sp. A young nyctotherus showing the round form, the reticulated structure of the cytoplasms, and the absence of nuclei. Stained with alum carmine. × 1500.

Fig. 7. Section of the large intestine of man, showing a section of a *Balantidium coli* in the chromidial stage. Stained with alum haematoxylin. × 1000.

Fig. 8. Section of the large intestine of man showing a section of a *Balantidium coli* containing spores. Stained with alum haematoxylin. × 1000.

Fig. 9. Section of the large intestine of man showing a "nest" of *Balantidium coli* in the submucosa with several free spores and young Balantidia. Stained with alum haematoxylin. × 375.

(Contributions from the Zoölogical Laboratory of the Museum of Comparative Zoölogy at Harvard College, under the Direction of E. L. Mark, No. 205.)

The Stages of *Haemogregarina stepanovi* Danilewsky found in the Blood of Turtles, with Special Reference to Changes in the Nucleus.

By
C. W. Hahn.

(With Plates XVI—XVIII.)

Contents.

I. Introduction.

The investigation reported in this paper was begun in the fall of 1901 at the suggestion of Dr. E. L. Mark, to whom the writer is deeply indebted for continued inspiration as well as for aid in many other ways. For several reasons much attention was given to a search for the intermediate host of this parasite, but inasmuch as satisfactory evidence on this point is still wanting, the present paper does not deal with that question. During the early period of the study, the work was carried on in the Zoölogical Laboratory at the Museum of Comparative Zoölogy, at Harvard College. From 1903 to 1905 it was not possible to continue the investigation; but in 1905 it was resumed at the Zoölogical Laboratory of Columbia University, where, through the kindness of Professors E. B. Wilson and G. N. Calkins, the necessary laboratory facilities were again available. I am especially indebted to Dr. Calkins for his hearty coöperation and encouragement while the work was in progress.

The Haemosporidia of Turtles have been known for some time under two names, *Haemogregarina stepanovi* and *Danilewskya stepanovi*, the former given to them by the discoverer, Danilewsky, in 1884, the latter by Labbé in 1894. Labbé created a number of new genera of Haemosporidia based on the differences in structure which he observed. Calkins (1906) has demonstrated the danger of classifying Protozoa before the life history is sufficiently known. On this ground, and also for reasons based on morphological conditions (page 359), the genus *Danilewskya* as established by Labbé will recognized in this paper. The earlier name, Haemogregarina, in its application to the parasites of turtle's blood, is deemed to have priority over others.

The presence of Protozoa in the blood of frogs was first observed by Chaussat (1850), and later by Lankester (1871), Bütschli (1876) and Gaule (1880, 1881). In 1885 Danilewsky discovered

similar parasites in the blood of the turtle. It is chiefly through the researches of DANILEWSKY (1885, 1887, 1889), LABBÉ (1891, 1894), BÖRNER (1901), SIMOND (1901[a] and 1901[b]), LUTZ (1901) and HINTZE (1902) that our knowledge of the haematozoön parasites of cold blooded animals has been acquired. For an account of the work of these and other investigators, the reader is refered to page 357 of the present paper. The account there given may be summarised in a general way as follows. It has been shown that *H. stepanovi* is a wormlike parasite similar to *Lankestrella*, but longer, and having the body folded on itself in the gametocyte stage. The anterior end of the gametocyte has a homogeneous region; the cytoplasm is a sponge-like network with chromatoid granules; there are, according to DANILEWSKY, small vacuoles in the cytoplasm, and the nucleus contains a deeply staining nucleolus. According to BÖRNER, the chromatin bodies vary somewhat in size, but there is nothing comparable with the „karyosome" of Coccidia and other Protozoa; the linin network may be an artifact of the fixing reagents. BÖRNER also denies the existence of a nuclear membrane. The growth from young stages has been outlined in a general way. The schizont has been figured but not defined. Conjugation and the formation of gamete cysts with their resulting gametes have been seen and described. The asexual cyst was figured by LABBÉ, but he apparently did not appreciate its significance. More recent writers have described the gamete cysts. The intermediate host is not definitely known, but it is probably either a leech (SIEGEL 1903) or a tick (LAVERAN e NEGRÉ 1905). DANILEWSKY observed three forms of motion executed by these parasites; a gliding, forward motion without change of external form; a bending back and forth; and a forward motion caused by waves of constrictions, which he observed to pass from the anterior to the posterior end. CRAWLEY's (1902) work on Gregarines suggests an explanation of the first of these forms of locomotion. LANGMAN (1899) and others (LUTZ 1901) are of the opinion that these parasites are not seriously harmful to their hosts. The results of conjugation are suggested by the condition in *Lankestrella* and more definitely stated by SIEGEL to be an oökinet with sixteen nuclei. We may expect from analogy with *Lankestrella* and *Proteosoma* that the non-folded parasites figured and described by SIMOND are the schizonts, and that they produce the cysts having sixteen to twenty-four sporozoits seen by LABBÉ, PFEIFFER and DANILEWSKY. Also that the two types having a tail region folded alongside the body are micro- and macrogametocytes. This point

follows from Siegel's (1903) statement that the snake-like (as contrasted with bean-shaped) forms in the leech's gut give rise to gametes.

But, from the close analogy with *Drepanidium serpentium*, we may suppose that they also conjugate in the blood of the vertebrate host, as Lutz observed in the snake.

It is the purpose of the writer of the present paper, in addition to corroborating these observations, to bring evidence on the following points: (1) That there are seven kinds of cysts, five in the schizont generations, two in the gamete generation; (2) That these cysts have, with some exceptions, young of types which are distinguishable from one another; (3) That sporozoits from a sporoblast cyst have a course of development differing markedly from merozoits arising in the third or fourth schizont generation; (4) That microgametes and macrogametes of the same relative age or of very different ages may conjugate with each other, giving rise to merozoits of varying size and shape; (5) That there are usually about sixteen chromatic bodies actually or potentially present in the nucleus of both the schizont and the gametocyte, and that in division these each divide, giving rise to about thirty-two chromatin bodies; (6) That cleavage in the gametocytes differs markedly from cleavage in the schizont and amphiont.

II. Materials and Methods.

Two hundred and eleven turtles were examined in the search for blood having a high percentage of *H. stepanovi.* The greater part of these were obtained through the kindness of Dr. E. L. Mark, Dr. H. W. Rand and Dr. R. M. Yerkes of Harvard University. In the following table (p. 311) are given the number of turtles of each species examined, the proportion of these found to be parasitized, and the number of each species from a given locality. The percent of infected turtles here given, though probably not very accurate, is instructive. The inaccuracy arises from the fact that one can not assume any turtle to be free from blood parasites without having searched its blood for a long time. On two occasions five hours of continuous searching resulted in finding only one parasite in each of two specimens of *Chrysemys picta.* One of these had one parasite

Table showing the species of turtles examined.

Species	No. of Turtles	% having Haemo-sporidia	Locality	No.
Terrapene carolina	12	0	North Carolina Mass. New York Kentucky	8 2 1 1
Emys meleagris	56	60.7	Venice, O.	56
Chelopus guttatus	27	33.3	Middlesex, Mass. Wood's Hole, Mass. North Carolina Not recorded	22 2 1 2
Chrysemys picta	46	28.3	Wood's Hole, Mass. New York City	44 2
Chelydra serpentina	6	50	Cincinnati, O. Falmouth, Mass. Cambridge, Mass.	4 1 1
Aromochelys odoratus	5	60	Fresh Pond (Cambridge, Mass.) North Carolina Falmouth, Mass.	1 1 3
Xenobates polyphemus	2	0	Florida	2
Malaclemys geographica	45	84.4	Cincinnati, O. Venice, O.	7 38
Amyda mutica	2	50	Cincinnati, O.	2
Pseudemys troosti	1	100	Boston market	1
Kinosternon pennsylvanica	2	100	North Carolina	2
Pseudomys scripta	1	100	North Carolina	1
Chelopus insculptus	3	100	Philadelphia	3
Terrapene bauri	1	0	North Carolina	1
Terrapene triungis	1	0	North Carolina	1
Pseudemys hieroglyphica	1	0	North Carolina	1
Total of all species	211	51.2 %		211

to 150000 blood corpuscles, the other had one to every twenty or thirty thousand corpuscles. But an extended search is not necessary to obtain data from which to estimate the relative degree of infection in different species, since this source of inaccuracy exists in all species alike. One may safely assume that many more turtles have parasites than the search reveals.

These figures suggest two conclusions. I find, as did Labbé (1894), that terrestrial turtles are not commonly parasitized. It will be noted that no Haemosporidia were found in either *Terrapene carolina*, *T. bauri*, *T. triungis*, *Pseudemys hieroglyphica* or *Xenobates polyphemus*, though it must be noted that the numbers of hosts examined was in nearly all these cases very small. Certain other species are only moderately parasitized, having only one third or even fewer of its individuals affected, as shown by two species of which moderately large numbers were examined, namely *Chelopus guttatus* and *Chrysemys picta*. Many other species, on the contrary, are more frequently infected, such as *Emys meleagris* (*Emydoidea blandinei*) and *Malaclemys geographica*. I have also found that species which are rarely infected, do not have highly infected individuals. But this inequality of the distribution may be due to the fact that both the proportion of infected individuals of a given species and the degree of infection in those individuals may be greater in animals from one locality than in those from another locality. Forty-two individuals of *C. picta* were taken from five different ponds near Wood's Hole; those from four of the ponds, thirty one in number, were, for each pond, about equally subject to parasites of the blood, while eleven turtles from the fifth pond were all free from parasites.

In order to obtain highly infected blood, one must seek turtles of a species which is both frequently and highly infected and from a locality where the parasites are found to be abundant.

Lutz (1901) found a similar irregularity of distribution in snakes, and sought highly infected snakes only for certain types of *Drepanidium serpentium*. Of the two hundred and eleven turtles examined by me, only two (*E. meleagris*) were sufficiently infected to contribute extensively to the results. Two other specimens of *E. meleagris*, one of *Aromochelys odoratus*, and one of *Malaclemys geographica*, were also rich in parasites and proved to be of value.

As a rule the blood was examined in stained smears. These were made by spreading the blood, or pulp of organs, evenly over the surface of a clean slide. The spreading was done with the aid

of a second slide, on which the blood was carried from its source, the edge of this slide being drawn over the surface of the first slide. With experience it is possible to prepare a smear so that the corpuscles, though close together, will not lie on top of one another. The smear preparation was allowed to lose its free moisture by evaporation before being fixed; this was aided by very gentle heat or, better, by currents of air. The stroma of the corpuscles and the serum should not be allowed to lose water. In this way the parasites are not subjected to dessication. The whole process requires but a moment, after which the hot fixative removes the danger of postmortem changes.

The blood of living turtles was at first obtained from the tail, but in cold weather the circulation is so sluggish that it requires hours to get a single drop of blood, even with the animal suspended tail downward. The following method proved to be more practicable. By tying a coarse soft twine around the hind leg just above the foot, the venous flow is obstructed, and a needle thrust into the congested region, especially into the region of a large vein or artery, usually produces a copious flow of blood. This flow, when small, can be removed by scraping the previously cleansed skin with the edge of a clean slide. In cold weather it is necessary to stimulate the circulation of the turtle by immersing it in a pail of warm water a half hour or more before the blood is required, having first tied off the foot.

To obtain blood from the liver, spleen, lungs or kidneys, these organs are reduced to a pulp by squeezing and rolling chopped bits between two thick slides. The exuding fluid is caught on the edge of a third slide, with which it is then spread in the usual manner on a fourth slide. Bone marrow is squeezed from the cut end of the articular facet of a long bone, such as the head of the femur, by means of a pair of pincers. It can be spread directly from the bone over a clean slide.

For purposes of identification, the turtles were numbered by means of notches cut in the posterior lateral edges of the plastron, notches on the right side being employed for units, those on the left side for tens. Corresponding numbers were scratched on the ends of the slides by means of a fragment of carborundum. The smears after being carefully dried, as described above, were placed in shallow dishes and fixed by pouring over them a hot fixative. Corrosive sublimate is by far the most desirable fixative for haematozoa, because of the excellence of the preservation following its use

as well as its convenience, and uniform action. VOM RATH's fluid sometimes gives quite as good results, but its action is less certain. FLEMMING's stronger and RABL's fluids are not quite so good and require more care in their use. A mixture of absolute alcohol with sulphuric ether, and one of weak alcohol and formalin were used to advantage when it was desired to keep the smear preparations for some time before staining. Blood smears may be kept for several days without injury to the parasite in a wide mouthed bottle filled with either of these mixtures. But preparations fixed with these reagents can not be stained satisfactorily.

The formulae used are as follows:

Sublimate mixture.

Alcohol (50 %)	150 cc	(33 %)[1]
Acetic acid (10 %)	3,7 cc	(0,16 %)
Water	75 cc	
	228,7 cc	

Saturated with bichloride of mercury.

VOM RATH's fluid.

Picric acid, sat. aq. sol.	400 cc	
Osmic acid (2 %)	24 cc	(0,11 %)
Platinic chloride (10 %)	20 cc	(0,45 %)
Acetic acid (glacial 80 %)	0.4 cc	(0,7 %)
	448 cc	

FLEMMING's stronger fluid. (See Lee, Vade Mecum, 5th edition, p. 42.)

Chromic acid (1 %)	15 cc	(0.75 %)
Osmic acid (2 %)	0,4 cc	(0,04 %)
Acetic acid (glacial 80 %)	1 cc	(4 %)
	20 cc	

Alcohol-ether mixture.

Absolute alcohol	50 cc
Ether (Sulfuric)	50 cc
	100 cc

[1]) In parenthesis following the volume of each ingredient is given approximately the per cent of that ingredient in the whole mixture. These per cents together constitute the "fundamental formula" of the mixture. Dr. MARK has been accustomed for many years to emphasize the importance of giving this fundamental formula as a means of quickly comparing the relative strenghts of various ingredients in different mixtures.

Alcohol-formalin mixture.

Formaldehyde (40 %)	10 cc	(8 %)
Sodium chloride (10 %) . . .	5 cc	(1 %)
Alcohol (65 %)	35 cc	(45,5 %)
	50 cc	

RABL's fluid. (See Lee, Vade Mecum, 5th ed. p. 331.)

Platinum chloride (1 %) . . .	4 cc	(0,2 %)
Bichloride of Mercury (sat. aq. sol.)	4 cc	
Water distilled	12 cc	
	20 cc	

Before considering the stains employed, mention should be made of a so-called wet method of fixation, which has been used in order to prevent the possible distortion due to dessication in dry smears. If a wet smear is fixed with a hot reagent, the corpuscles and plasma are so shrunken and distorted that it is impossible to see the parasites under favorable conditions. With the "wet method" this is not the case. One proceeds as follows: To a small vial containing 1 cc of physiological salt solution or defibrinated serum, at a temperature about the same as that of the turtle operated upon, a drop of fresh blood is added and the vial is hastily shaken, and about 3 to 4 cc of hot fixative are immediately poured into the vial. A parasite inside a corpuscle can hardly be influenced by the salt solution before the hot fixative coagulates its protoplasm. The same method was applied to the pulp from organs and bone marrow. The corpuscles settle from the mixture and may be dehydrated and preserved in alcohol, or mounted on a slide and stained in the usual manner. In case one wishes to stain the "wet-fixed" blood in solution, a settling tube is indispensible, since the corpuscles settle very slowly in passing from alcohol of high proof back to water. The settling tube which I used was of about the size and shape of a large medicine dropper or pipette, and had a sheet of rubber tied over the small end. The large end was closed by an endless broad rubber band, which was stretched over both ends of the tube and could be readily removed. When the corpuscles had settled into the small end of the tube, the supernatant fluid was drawn off with an ordinary pipette the small end of which had been drawn out to capillary dimensions, and a new fluid added. When in xylol, the sheet of rubber was slipped off, and the corpuscles allowed to spread out on a slide. When such tubes are carried in an approximately vertical position in the pocket of ones waistcoat, the settling of the

corpuscles will be accomplished much quicker than when the tubes rest undisturbed in one position, because of the frequent slight changes in the position of tube.

The stains best suited to this protozoön are haematein, toluidin blue, saffranin and Brazilin. The most satisfactory preparations are those which have been made by the following method: fix for 5 to 10 minutes with the hot corrosive acetic mixture described above, wash in grades of alcohol as follows, 35 %, 50 %, 70 % + iodine, 70 %, run down to water and stain for 7 to 9 hours in haematein; then wash thoroughly in water, differentiate 1 to 3 minutes in a decolorizer (1 % HCl in 70 % Alcohol) while under observation with a magnification of 900 diameters. The haematein mixture I have used is a slight modification of Mayer's formula (See Lee, Vade-mecum, 5th ed. p. 119).[1]) This stain works admirably after fixation with Vom Rath's and Rabl's fluids.

For cytoplasmic structures toluidin blue is of great value. It stains well after corrosive acetic fixation, and for work where the finer details of structure were not sought I have used it after fixation with either absolute alcohol and ether or the formalin mixture, with both of which it gives very satisfactory results. For this purpose I have also employed Romanowsky's eosin-methylin blue. The latter washes out too freely in alcohols, and in no case is it comparable to haematein as a differential stain. As a control, or as a supplement to other stains, saffranin, following Flemming's fluid as a fixative, is very desirable. Heidenhain's iron alum and Brazilin after fixation in Vom Rath's mixture or corrosive acetic gave a few good preparations, but this method was not much employed owing to the difficulty of extracting the stain from the blood plasma and the stroma of the blood corpuscles. A few smears fixed with corrosive acetic were treated with gold chlorid according to Apathy's aftergilding process. The parasites stain well, but the myocyte fibrils, for which this treatment was successfully used by Danilewsky (1889) and Labbé (1894), are not brought out.

Practically all my smears have been made on short (50 mm) slides instead of covers, because of the greater ease of handling the

[1]) *Haematein formula*; a saturated aqueous solution of ammonia alum is first prepared. After once cooling it is again heated to near boiling. To this, *haematein crystals* are added until they will no longer dissolve. While cooling, a crystal of thymol is added. Stain for several hours. Tissues should be washed well in water to remove the alum before passing into alcohol. The stain should be used fresh. Differentiate in 70 % alcohol containing 1 % HCl.

preparations and keeping track of the records, and also because the short and relatively heavy slides are less likely than cover glasses to break.

For the location of objects on the slides a mechanical stage has been used, at first a Reichert, later a Spencer. Searching for parasites is possible with a 1/5 inch objective, but it is best to use a 1/6 inch for the sporulating stages, and in the search for special stages of the nucleus one can not use a power much lower than a 1/12 inch oil immersion.

Fresh blood for the study of living Haemosporidia was obtained in the manner described above. A droplet was suspended over the depression of a hollow-ground slide from a cover the edges of which were sealed by vaseline. It was kept moist by a drop of water in the bottom of the depression. Hintze, in the study of *Lankestrella*, sealed his cells with paraffin. Lutz (1901) sealed with vaseline, but employed an ordinary flat slide. The heat necessary to melt the paraffin and make it adhere to the slide and the oil from the vaseline when it comes in contact with the blood serum are possible sources of trouble. But both Hintze and Lutz seem to have kept their cultures quite as well as I have. Simond's (1901[a]) experiments with sealed tubes of blood and pyrogallic acid led him to conclude that the extrusion of parasites was due to lack of oxygen. As extrusion is one of the first changes encountered in fresh parasitized blood, it is probable that all three forms of cell-slides just mentioned are objectionable, in that they do not admit fresh oxygen.

Long continued and fruitless efforts were made to discover a genetic series in the multitude of forms distinguishable in this parasite. Not until it was discovered that the nucleus, in its growth, undergoes, a succession of structural changes, was it possible to find satisfactory evidence of relationship between young and adult stages. This condition was first encountered in the secondary gametocytes (Diagram a^1—d^1, A^1—D^1). During this period of the life cycle the sequence of the nuclear changes is particularly obvious, whereas it can be made out only with difficulty in the other periods; but careful study of other periods of development has made it possible to demonstrate approximately parallel stages of evolution of the nucleus after every nuclear division. By comparing the evolution of the nucleus with that of the external from of the parasite, one can establish the existence of a sequence, which it would be impossible to show without a knowledge of the order of the nuclear changes.

III. General outline of the life history within the turtle.

The stages of *H. stepanovi* recorded by Danilewsky, Labbé, Börner and Simond can be roughly arranged in a natural sequence, if they are interpreted on the probably justifiable assumption of a close analogy between this species and such nearly related blood parasites as *Lankestrella*, *Karyolysus* and *Drepanidium serpentium*. But the analogy to the life-history of *Lankestrella* as given by Hintze is not, as a matter of fact, very close. Moreover, the existence of a complete sexual cycle seems to have been overlooked by Labbé in *Karyolysus*. It is however only by elaborate piecing together that one can reconstruct from the literature on *H. stepanovi* even a very fragmentary life cycle. As will be seen in the following diagram, there is in the development of this species a partial parallel to that of *Proteosoma* and of *Lankestrella*. The course of development, as I shall attempt to demonstrate, is in brief as follows: It will be seen by reference to the Diagram (Plate XVIII) that, starting with the sporozoit (Diagram, Stage IV) there are three possible paths of development. It is probable, however, that all sporozoits become schizonts. Sporulation of such a schizont (Stage IV) gives rise to 16—20 merozoits (Stage VII), for each of which (Stage IV^{1}) there are three possible paths of further development. Some (or all) may become schizonts (Stage VII^{1}), others (or all) microgametocytes (Stage *a*) and still others (or all) macrogametocytes (Stage *A*). If the merozoit becomes a schizont, it sporulates and only 8—10 merozoits are formed (Stage VII^{1}). At least, the number, if not always 8—10, is probably less than in the first schizont cyst (VII) after sporogony. The merozoits (Stage IV^{2}) of an 8—10 spore cyst also have, as in stage IV, three possible paths; this time the schizont path probably leads to a cyst (Stage VII^{2}) having only 4—5 merozoits, while the gametocyte path is identical with that of the gametocytes (Stages *a*, *A*) of the previous generation. Most of the merozoits (Stage IV^{3}) from the 4—5 cell cyst become macro- or microgametocytes (A^{1} or a^{1}), though some may again undergo schizogony and produce a cyst (VII^{3}) having still fewer (only 2 or 3) merozoits. On theoretical grounds it is assumed that all of these (IV^{4}) become microgametocytes (a^{1}) or macrogametocytes (A^{1}). All the microgametocytes encyst and give rise to 7—10 microgametes (*d*, d^{1}). But the merozoit (IV^{1}) arising from a sporozoit, or one (IV^{2}) a single generation later, produces micro- (*a*, *b*, *c*) or macrogametocytes (*A*, *B*, *C*) of a somewhat diffe-

rent form from the merozoits of the later schizont generations (IV^3, IV^4). The macrogametocytes (A^1—C^1) and microgametocytes (a^1—c^1) from the latter have elongated nuclei and faintly staining cytoplasm. A microgamete (Stage *e*) sooner or later conjugates with a macrogamete (Stage *E*); the resulting zygote (Stage 2) grows to large size, causes the formation of a cyst from the remains of the blood corpuscle (Stage 3), and from its cleavage there result single-celled sporoblasts or sporozoits in large (up to 32) number.

The two main points of difference in the life histories of *H. stepanovi* and *Lankestrella minima* are (1), that in the latter the gametocyte produces only a single macrogamete, whereas in the former four to six macrogametes are produced, and (2) that in *Lankestrella* the zygote occupies a tissue cell, whereas in *H. stepanovi* it completes its clevage in an erythrocyte.

So little is actually known about the life histories of the haemosporidia of other reptiles that a comparison with them would not be very instructive. In comparison with *Proteosoma* the differences are essentially the same as in the case of *Lankestrella*; *Proteosoma* has only one gamete arising from each gametocyte and the growth of the zygote takes place in a tissue cell, in this case in an epithelial cell of the wall of the stomach of the mosquito. *Proteosoma* also differs from *H. stepanovi* in two other respects; first, its zygote produces clearly distinguishable sporoblasts with innumerable sporozoits, whereas in *H. stepanovi* the sporoblast is hypothetical and the sporozoits are only about thirty in number; apparently, too, it has much smaller and more numerous microgametes than *H. stepanovi*. When *H. stepanovi* is compared with *Plasmodium vivax* of malaria, these differences are the same in kind, but greater in degree; but when compared with *Coccidia*, they are less in degree though, with one exception, the same in kind. The exception is due to the fact that the life cycle of *Coccidia* (*C. schubergi* SCHAUDINN) is completed within a single host. In this respect *H. stepanovi* and *Lankestrella minima* resemble *Coccidia*, because they both have a sexual and an asexual generation completed within a single host. *H. stepanovi*, *Karyolysus* and *D. serpentium* differ from *Coccidia* in respect to the number of macrogametes produced by one macrogametocyte.

IV. Explanation of Diagram.

(Plate XVIII.)

Sporogony.

1. A micro- and a macrogamete conjugating.
2. Zygote formed by union of the two gametes.
3. Zygocyst (Oöcyst, Amphiont) with 24—32 sporozoits.

Sporoblasts not shown. For intermediate steps see Plate XVI Figs. 12—31.

Schizogony.

IV. Sporozoit at the beginning of its career as a trophozoit. Whether it ever follows the paths of *A—D* and *a—d* is not known.

V. A young trophozoit of the first (asexual) schizont cycle.

VI. A mature schizont of the first (asexual) schizont cycle.

VII. Schizogony of the first (asexual) schizont cycle.

Second asexual cycle.

IV^1. Merozoit from the first (asexual) schizont. It has three paths open to it, *A*, *a*, or V^1, the last representing the second schizont, or asexual, cycle.

V^1 and VI^1 are practically the same as V and VI, as far as present evidence goes.

VII^1. Schizogony of the second schizont cycle.

Third asexual cycle.

IV^2. Merozoit from second asexual cycle. It has at least three paths of development — V^2 and VI^2, omited VII^2, *A—D* and *a—d*, or possibly also A^1—D^1 and a^1—d^1.

Stages V^2 and VI^2 are essentially like V and VI and therefore are not repeated.

VII^2. Schizogony of the third asexual cycle.

Fourth asexual cycle.

IV^3. Merozoit from third asexual cycle. It likewise has three paths open to it. V^3, A^1—D^1, and a^1—d^1.

V^3. Trophozoit of the fourth asexual cycle.

VI^3. Trophozoit (not represented) of the fourth asexual cycle.

VII^3. Schizogony of the fourth asexual cycle.

Fifth asexual Generation.

IV^4. Merozoit from the fourth asexual generation, which probably has only two paths open to it (A^1—D^1 and a^1—d^1).

Sexual Generation.

a, *b*, *c*. Successive stages in the growth of the first microgametocyte.

c. Mature microgametocyte of the first cycle.

d. Formation of the (7—10) microgametes of the first cycle.

e. Microgamete.

A, *B*, *C*. Successive stages of the growth of the first macrogametocyte.

C. Mature macrogametocyte of the first cycle.

D. Formation of (4—5) macrogametes of the first cycle.
E. A macrogamete.
a^1, b^1, c^1. Successive stages in the growth of the secondary microgametocyte.
d^1. Formation of the microgametes (7—10) of the second cycle.
e^1. Microgamete not distinguishable from *e*.
A^1, B^1, C^1. Successive stages in the growth of the secondary macrogametocyte.
D^1. Formation of the (4—5) macrogametes of the second cycle.
E^1. Macrogamete not distinguishable from *E*.

Before entering upon a more detailed description of these different stages it will be desirable to explain the terminology which has been adopted. It is essentially the same as that employed by LÜHE (1900) and SCHAUDINN (1899, 1902), with the modifications adopted by MINCHIN (1903). I have used the term sporozoit for the young forms arising in a cyst which is the direct outcome of a process of conjugation, in spite of the absence, as far as is at present known, of definite sporoblasts. If no other more typical sporoblasts exist in this species, the last cell masses in cleavage may be regarded as sporoblasts. The sporozoit in any case is the beginning of a new asexual cycle in the red-blooded host. A merozoit is one of the offspring of an asexually reproducing body. A merozoit which is to develop into a microgametocyte is designated as a "micromerozoit". We have no evidence that a sporozoit ever undergoes this differentiation, although such a differentiation is implied by the term "microsporozoit", used by LUTZ. "Macromerozoit" is used in a similar way. "Micro- and macrogametocytes", or for brevity gametocytes, are the cells which produce gametes. The term zygocyst will be used, to designate the sporulating zygote, notwithstanding the fact that there is no evidence of a membrane secreted by the parasite and functioning as a cyst wall. That which functions as the cyst wall is the transformed host cell. Within it one can demonstrate a very thin loose covering to the parasite, which, however, is to be found in praesporulating parasites and is more properly an excretion in the nature of a waste product, or a device for locomotion when free, than a protecting envelope or cyst.

MINCHIN's (1903) terms zygote (for copula), oöcyst, and amphiont will be adhered to, but a sporulating zygote I have called a zygocyst. It is necessary, however, to provide a new term for the two or more distinguishable cycles of schizonts and gametocytes. While I have used the terms "primary", "secondary" and "late" schizont or gametocyte, I am not certain that they are here applied to sharply defined conditions. Even if the first generation after conju-

gation can not be distinguished from the second, yet as long as later generations are so different as to be easily recognised, there is still a theoretical difference which "primary" and "secondary" may be conveniently used to express.

Description of gametes and of conjugation.

Conjugation was first observed in the Haemosporidia of cold-blooded animals by Labbé (94). He states that it takes place between free individuals, the posterior ends of which approach each other and gradually fuse while undergoing violent agitation. The product of fusion is like the conjugants, except that it is more bulky. The vacuoles fuse with one another, as do also the nuclei. In *Karyolysus* and *Drepanidium* he distinguished the gametes and actually saw them conjugate. More recent observers do not confirm Labbé's account of this process. Hintze (1902) describes a form of conjugation in *Lankestrella minima* (*Drepanidium princeps* Labbé), but it is quite different from that described by Labbé. Lutz (1901) describes in *D. serpentium* of snakes microgametes, macrogametes and stages which he assumes are zygotes because of their size. Siegel (1903) found snake-like parasites in turtle's blood which had been ingested by leeches. He observed that these parasites while lying between the tufts of epithelium lining the intestine of the leech, develop into micro- and macrogemetes, the former being, as the name implies, smaller than the latter. But here his observations stop. Elongated bodies which he found in the circulation of the leech he assumed to be oökinets of *D. stepanovi* which had arisen by conjugation of the gametes in the leech's gut. Craig (1907) has observed a form of conjugation in the haemozoits of latent malarial infections.

While I have not been able to observe the process of conjugation in the living parasite, the evidence from stained preparations that conjugation takes place in the blood of the turtle is to my mind conclusive. Not only can one distinguish between microgametocytes (Pl. XVI, Fig. 42; Pl. XVII, Fig. 107, 108), macrogametocytes (Pl. XVI, Fig. 47; Pl. XVII, Fig. 106, 109), and their respective gametes (Pl. XVI, Fig. 1, 2, 3, 6; Pl. XVII, Fig. 65), but one can also find all stages in the process of conjugation (Pl. XVI, Fig. 4, 5, 7, 8, 9). The number of cases where both gametes occur in the same corpuscle is in some preparations very large, whereas in preparations containing few gametes this condition is disproportionately rare.

The structural distinction between micro- and macrogametes is described on page 348. The typical appearance is that represented in

Fig. 3, where both gametes are small, i. e., of about the same size they exhibit when set free from the cysts. But growth before conjugation may result in a large macrogamete (Fig. 2), or a large microgamete (Fig. 6); or both gametes may become large (Fig. 4, 6), in which case it becomes difficult to distinguish the micro- from the macrogamete and to distinguish either from merozoits (Fig. 4). Sometimes two stages which are not gametes are involved, for example a merozoit or a young gametocyte may be closely associated with a gamete, but it has not been possible to discover the fate of these atypical conjugants. The nuclei in all gametes have a small number of chromatin bodies, the largest number encountered being sixteen. The first distinguishable stage in conjugation is a close approximation of the gametes without loss of their individual outlines (Fig. 4). Here the external outline of the two gametes together is similar to that of a zygote, like Fig. 7. There are cases in which the external evidence shows that the union of the two parasites is incomplete, although the internal fusion is complete except for the two nuclei. On slides where gametes are abundant, but where the gamete cysts are already scarce, large sized individuals with two nuclei, which lie either closely approximated or distinctly separated, are very common, in fact, so common that one is almost led to suspect that crushing may have caused the splitting of a single nucleus. But the following facts are against such an explanation. Transverse separations are never found. The space between the two nuclei is frequently too great to allow of this explanation. The adjacent surfaces of the two are smooth, like the other parts of the surface of the nucleus. Stages which are now known to be older, because of certain conditions of the chromatin and nuclear matrix, are never broken. As further evidence that these stages arise by conjugation, we have three facts: (1) The long slender nucleus of the microgamete can frequently be distinguished from the more oval nucleus of the macrogamete (Fig. 7). But the external form of the nucleus changes so that in many cases the size is the only basis of distinction (Figs. 5, 9). (2) A second point is the number of chromatin bodies in the fusion nucleus. In each nucleus of the supposed conjugants, there are never more than sixteen chromatin bodies, whereas these two nuclear masses together frequently have from 20 to 32 such structures (Fig. 9). That these nuclei do not always have the maximum number (32) of chromatin bodies, is due to the fact that the chromatin bodies one by one lose their identity in the building up of a dense matrix preparatory to fusion. By a careful

comparison of the external form of the zygote with that of a typical adult schizont, other points of difference may be noted. The schizont is usually a short sausage-shaped, slightly curved body, one end of which, the posterior, is slightly larger than the other, and its nucleus is at its anterior end (Pl. XVII, Figs. 98, 99, 101, 102); whereas zygotes vary greatly in shape, according to whether the uniting gametes were both young and of the same size (Fig. 7), both old and of the same size, or of different sizes and ages. In looking over a large number of zygotes this becomes very evident. One can not explain the great variations in the proportions and shapes of zygotes, which are concomitant with great variation in the stage of development of the nucleus, without resorting to the hypothesis of some sort of fusion.

As yet no evidence has been found in the macrogamete of a process comparable with egg maturation. While such a process has been described by Schaudinn and Siedlecki (1897) for *Adelea ovata;* by Schaudinn (1900) for *C. schubergi;* by Léger (1903) for *Stylorhynchus;* by Grassi (1901) for *Proteosoma* and by Schaudinn (1902[b]) for the *Plasmodium vivax* of malaria, only one haemosporidian of a cold-blooded vertebrate has been observed to have anything suggesting a process of maturation. Hintze (1902) claims that the nucleus of the macrogametes in *Lankestrella* divides and that one of the daughter nuclei passes to the surface and there disintegrates. But when a macrogametocyte gives rise to from four to six gametes, as in *H. stepanovi,* instead of one, the requirements usually met by maturation may perhaps be fulfilled in some such way as in the spermatogenesis of metozoa.

After conjugation the cytoplasm assumes a normal alveolar structure (Figs. 7, 9—12). Sometimes the one or two vacuoles of the gametes persist, making two to four, but just as they are apparently temporary structures in the gametes, so also are they inconstant in the zygote after conjugation, especially if the gametes were small (See page 350). The uniformly alveolar structure of the cytoplasm is maintained until the approach of sporulation, when two or three large vacuoles appear near the posterior end (Figs. 8, 17, 18). The number increases, especially in this region (Figs. 16, 19, 20), until in cleavage there are many (Figs. 22, 23, 25). Practically all the alveoli seem ultimately to be enlarged (Figs. 21, 27). According to Schaudinn (1900, 1902[a]), *Coccidium schubergi* and *Cyclospora caryolitica* likewise have large alveoli at this (zygote) stage.

Returning to the two nuclei of the zygote, we find the question

as to their fate more difficult than that of their origin. It is possible to demonstrate a gradual diminution in the size and number of the chromatin bodies and, *pari passu*, an increase in the achromatic substance of the nucleus. But there is a distinct gap in the stages represented between this condition, with two nuclei having minute chromatin bodies, and a dense achromatic matrix, and such conditions (Fig. 17) as can be connected by gradual steps with cleavage stages. The first or typical stage is that of a zygote (Fig. 11) having a size appropiate for this period of growth and sixteen definite chromatin bodies in its nucleus. To bridge over the gap between this condition and the one shown in Figure 17, there is but one known stage (Fig. 10). In this we have a crude achromatic network with small chromatin bodies connected with the achromatic structure. As we shall see later on, the formation of chromatin bodies always takes place on a network of achromatin, the latter, having developed from an achromatic matrix, which in turn arises precisely as does the matrix of a zygote possessing two nuclei. Unfortunately the visible granules of chromatin in Figures 10 are too numerous to fit well in this place. Sometimes, however, the chromatin bodies of a cleavage nucleus persist for a time and exist in the network stage. Such may be the explanation of the numerous chromatin bodies in Fig. 10. However, analogy leads us to suppose that a series of nuclear stages is omitted between Figures 9 and 11 similar to those of the microgametocyte represented by Plate XVI, Figures 34—39 and 41.

By some such process there result about sixteen chromatin bodies embedded in very little achromatic substance (Fig. 11). These chromatin bodies become quite large (some are large in Fig. 11). In many cases a few of them present the appearance of a dumb-bell. In Figure 12 all are in about the same stage and either have the form of dumb-bells or have divided, the daughter chromatin bodies remaining very close together. There are in this case precisely sixteen such pairs or dumb-bells; but it is more common to find several large chromosomes and may pairs of small chromosomes with two or three dumb-bell figures (Figs. 13—15), making from 20—30 distinct bodies. Obviously such appearances are due to the fact that part of the chromatin bodies are tardy in division, others early. This we find to be a very common, in fact the usual, behavior of the elements of the nucleus (page 341). Figure 13 has in the neighbourhood of 32 chromatin bodies, some of which are already quite small. At this time there is little or no stainable substance

between the chromatin bodies (Fig. 14 β). Ultimately all the chromatin bodies are reduced in size and at the same time the achromatin becomes more and more visible (Fig. 13), until at length a definite nuclear outline or wall makes its appearance (Fig. 15). When all the chromatin bodies are thus changed, the achromatin is very marked (Fig. 16). From this stage until the completion of a new set of chromatin bodies there is evidence of a membrane around the nucleus. This is true of both sexual and asexual generations. In view of this fact it is not proper to say that the nucleus of *H. stepanovi* always has a membrane, as is claimed by Börner (1902). That the nucleus of *L. minima* has no membrane at any time, seems very improbable, although it was not found by Hintze. Labbé, on the other hand, states that, whereas in young Karyolysus there is no nuclear membrane, a membrane appears when the chromatin bodies have all formed, which seems to accord with my own observations on *H. stepanovi.*

At, or a little before, the time when the achromatic matrix appears, the nucleus is transversely elongated (Figs. 15, 16). Whether this elongation is a step in the aggregation of material at the poles of the nucleus, as in Figure 17, is not certain. I have at least six good cases, similar to Figure 17, which tend to show that there is a polar aggregation of achromatic material. The condition of the chromatin bodies in the nucleus at this time is very variable, both as to number and size (Figs. 19, 20). The bodies are no doubt old ones in process of dissolution. After the nucleus loses its stainable chromatin bodies, the achromatic material assumes a spindle-like form (Fig. 18). Just what significance is to be attached to this and the increased density at the two poles of the nucleus seen in Fig. 17, is a matter of uncertainty I have at least four other good cases of this kind, in which the achromatic material is in the form of a spindle sharply pointed at the poles. A fifth case (Pl. XVII, Fig. 115) has not been included in this series, because the polar masses resembling chromatin bodies are achromatic strands seen in lengthwise section and while there are obvious lengthwise strands and pointed poles, it is impossible to tell how much of this figure is due to chance. No serious attempt, therefore, has been made to correlate the details of structure seen here with those of earlier and later stages. The position of the spindle is easily accounted for, since either the spindle or the plane separating the daughter nuclei always rotates from a transverse position in the parasite to one approximately parallel to its long axis. In all these spindles there are

distinct though pale threads of achromatic material running lengthwise of the spindle and more or less curved according as they lie near the periphery or the axis of the spindle. Neither centrosomes nor stainable chromatin bodies have been found in connection with these bodies. However, all the preparations of these stages which I have are stained in the same manner (viz. with haematein after fixation with corrosive sublimate), and it is therefore possible that other methods of treatment might have brought to light structures which I have missed.

Evidence of these achromatic threads are very common in the later stages of nuclear division, but the changes by which the spindle resolves itself into two daughter nuclei are by no means clear. The long axis of the conjugate nucleus of the zygote sooner or later rotates, as has been stated, from a position transverse to the long axis of the parasite into one parallel with it. The rotation may begin before the formation of the spindle (Figs. 16, 17) or during the spindle stage. Toward the end of the division it usually has a diagonal or longitudinal direction (Figs. 21, 22, 23). The threads of the spindle in late stages have the form of two or more processes stretching out from each pole, or new nucleus, in the direction of the opposite pole, but often falling short of the region of the equator. Sometimes a few chromatin bodies occur along the threads and in the daughter nucleus (Figs. 21, 23). These are probably to be regarded as persistent chromatin bodies which have not yet been changed into the matrix of achromatin material. The subsequent changes in the nucleus prove that they are not the true chromatin bodies of the daughter nucleus.

The daughter nuclei take up a position at the ends of the much enlarged oval zygote (Fig. 24). The achromatic substance becomes more dense and assumes a definite and more regular outline. The nucleus may present a lobed appearance on the side directed toward the sister nucleus, there being sometimes from one to three blunt processes (Fig. 25), resembling those seen in the cleavage nuclei of *Ascaris*. In typical cases the chromatin grains all disappear (Fig. 25, lower nucleus). The nucleus increases in volume by developing alveolar spaces, which give it the appearance of a coarse network (Fig. 25, upper nucleus). This is a most significant stage, for it is found in all phases of the life history of *H. stepanovi* at the beginning of the career of every nucleus having chromatin bodies.

In the two-cell stage (Fig. 26) the external form of the zygote has practically lost all the characteristics of the younger zygote.

The taper and the curvature no longer exist. The shape now varies from the symmetrically elliptical (Figs. 23, 24) to the ovate (Figs. 25, 26).

From the beginning of conjugation, the nucleus of the blood corpuscle is displaced, so that by this time, it has undergone a certain amount of flattening, while the corpuscle itself is reduced to a thin envelope (Figs. 22, 23, 24, 26). In later stages of cleavage the nucleus of the blood corpuscle may be greatly flattened and the corpuscle itself become still thinner (Fig. 31). While many zygotes are found without any enveloping corpuscle, one can not be sure that they have not been set free mechanically by the rude treatment to which the pulp of the organs and the bone marrow is subjected in making smear preparations.

The effect of blood parasites on the erythrocyte and its nucleus has been carefully studied by many observers. The *Haemosporidia* of turtles, snakes, crocodiles, and lizards all displace the nucleus of the erythrocyte, while those of frogs do not (Danilewsky 1885, 1887, 1889; Labbé 1894; Börner 1901). Lutz (1901) claims that in the case of *D. serpentium* the microgametes have no effect on the erythrocyte, that the macrogametes displace the nucleus but do not otherwise affect the corpuscles and that the zygotes cause the atrophy of the nucleus. My observations on the gametocyte of *H. stepanovi*, which is probably closely related to *D. serpentium*, are not in agreement with this statement, inasmuch as all the cysts and likewise the excessively large individuals of *H. stepanovi* displace the nucleus. Labbé (1894) found that *Karyolysus* cuts the nucleus into two or more parts and finally destroys the corpuscle. Börner (1901) states that two corpuscles are destroyed, one by the limbed schizont, the other during schizogony. The parasite, he says, causes the enlargement of the corpuscle, the nucleus of which does not degenerate until a later period in the invasion. Parasitised corpuscles soon become pale and show around the parasite an area undergoing degeneration, though it is not granular as described by Labbé. In the blood of birds both conditions have been observed. *Halteridium* does not displace the nucleus (Opie 1898), but *Proteosoma* does (Opie 1898; Saccharoff 1893; Schaudinn 1902). Schaudinn states that *P. vivax* enlarges the corpuscle in man, discolors it, and then causes it to diminish in size.

The cytoplasm of the zygocyst has already been described as highly vacuolated or constituting a coarse alveolar structure. Cleavage of the cytoplasm takes place as a rule before, or at the time, the chromatin bodies reappear. The plane of cleavage is slightly

diagonal to the long axis of the zygocyst, but more or less perpendicular to a line connecting the daughter nuclei. Adjacent margins of the two cells thus formed usually overlap somewhat (Fig. 26). In some cases the cleavage plane is practically perpendicular to the axis of the cyst. Subsequent planes of cleavage are approximately at right angles to a line connecting the new daughter nuclei, but the relation of these to the first cleavage plane depends upon the degree of rotation of the dividing nucleus. As a consequence a great variation is encountered in the relation of the cells to one another in the four-, six-, and eight-cell stages. In advanced stages one can scarcely make out any trace of the first plane of cleavage.

The network nucleus resulting after the first cleavage is connected by several intermediate stages to a condition like that represented in Figure 26. Here the chromatin bodies may be seen at the nodes of a fine network of achromatin, and also attached to the nuclear membrane. Stages between Figures 25 and 26 are not frequently encountered in cysts with two nuclei, but in later cleavage stages they are not uncommon, for example, the nucleus nearest the top of the plate in Figure 29. Moreover, one can find two sister nuclei in which a part of one nucleus is in a network condition, while the rest of it, and the whole of the other nucleus present fully formed chromatin bodies. But this inequality of development in different parts of the nucleus is very common at other stages (pages 325, 341) as well as at this. That these chromatin bodies become entirely isolated, there can be no doubt, as we have many zygotes with two or four nuclei in each of which there are about sixteen distinct chromatin bodies. Two such nuclei are shown in Figure 28.

Before the second division of the nucleus, one would expect, from analogy with the first division, that the chromatin bodies would each divide giving rise to thirty-two bodies, and that these would then disappear, either in part or entirely. Typical thirty-two chromosome conditions are not known in cleavage stages, but large oval transparent nuclei with more than sixteen small chromatin bodies, some of which are in couplets, are common. These nuclei have a characteristic appearance which distinguishes them as cleavage nuclei. They resemble the zygote nucleus (Figs. 11—16), from which they are sprung, at the time its chromosomes are dividing. The chromatin bodies are at first large (Figs. 26, 28), then the number is greatly increased and the nucleus as a whole is enlarged. Very characteristic stages of this type exist. At this time the nucleus

is without conspicuous achromatic substance and has a very transparent appearance. Dividing nuclei in the second, third and fourth cleavages are very common (Figs. 21, 22, 23, 28, 30 and 31). They are characterised by two parallel bars or strands of stainable material in which a variable number of chromatin bodies are embedded. These are to be regarded as chromatin bodies which have either not yet had time to disappear, because of the rapid succession of divisions which the nucleus undergoes in the late cleavage, or, in cases like Figures 28 and 31, they may represent swollen daughter chromosomes preparing to divide. From the similarity of the parallel bars in cases like Figure 28 (right hand nucleus) and the lower nucleus in Figures 30 and 31 to those found in the zygote nucleus in the later stages of its division, one may infer that they represent the end product of a sort of spindle, though nothing else suggesting a spindle has been noticed in stages later than the first nuclear division.

In the late zygocyst cleavage the network stage has not been observed, probably because the divisions follow in rapid succession and the late stages of cleavage are rare. The occasional presence of a nucleus with small chromatin bodies and a network with large meshes and fine connecting threads, like the upper left hand nucleus of Figures 29, warrants the belief that, as elsewhere, the coarse network is the starting point. Three of the deep lying nuclei of Figure 31 also have an open network.

There are many zygocysts in which there are an odd number of nuclei. These conditions are due, no doubt, to the fact that in the first or second cleavage the nuclear material is not equally divided between the two daughter nuclei, as is the case in the two nuclei resulting from the second division shown in Figure 27. Here there are only three nuclei; the right-hand nucleus has lost most of its chromatin bodies and its elongation indicates that it is on the point of dividing again. If this and the small left-hand nucleus are the products of the second cleavage (which seems rather improbable owing to the distance between the two), then the larger mass of the former is correlated with its early division as compared with that of the undivided third nucleus. On the other hand, if the small nucleus and the large nucleus at the left are the products of the same mother nucleus, then the two together were larger than the right-hand nucleus and, having completed the second cleavage first, may be interpreted as evidence of the same principle, namely that the rapidity with which the daughter nuclei begin to divide is

correlated with their relative sizes. Figures 28 and 29 are to be accounted for in this manner.

After the last division of the nuclei of a praesporulating zygocyst, the cytoplasm surrounding each pair of nuclei divides into two approximately equal masses, as is the case in earlier stages of cleavage (Figs. 28, 29 and 30), but not all of these portions of cytoplasm are made into the sporozoits. A certain region near one end differentiates itself as the anterior end of the sporozoit. It has sharp lines separating it from the remainder of the cytoplasm. The nucleus lies within this area. The posterior end of the sporozoit remains undifferentiated from the cytoplasm of the sporoblast-like body. The cytoplasm of the completed anterior end of the sporozoit, unlike that of the sporoblast, has small alveoli of uniform size and shape, similar to those of the mature sporozoit.

These conditions are illustrated in Figure 31 (Pl. XVI) and Figure 93 (Pl. XVII). It seems reasonable to suppose that the protoplasmic masses from which the sporozoits are thus differentiated, are comparable to the sporoblast cells of *Coccidia*. Throughout the reproductive processes, one can trace a gradual increase in the size of the zygocyst, much of which must undoubtedly be due to an increase in the size and number of alveoli. There is also an increase of material, even though it is nothing but water, since the alveoli are themselves filled with protoplasmic substances.

After the sporozoits have been, as it were, carved out of the cell masses which we have compared to sporoblasts, their nuclei undergo conspicuous changes. I have noted several cases of maturing zygocysts in which the nuclei are devoid of visible chromatin bodies, as for example in the right-hand nucleus of the lower pair in Figure 30. Because of the subsequent changes of these apparently achromatic nuclei, it seems allowable to call them karyosomes, in the sense that they are the bodies from which the chromatin bodies subsequently arise. From analogy with the course of events in the zygote daughter nuclei (page 327) and in the micro- or macrogametocyte nuclei (page 341), one would expect the karyosome to develop vacuoles and become a coarse network. A coarse network has not been found, but the fine threaded network with large meshes, which always arises from a coarse network, has been found in the young m e r o z o i t (compare the merozoits Plate XVII, Figs. 68, 70), and probably exists in young sporozoits as well. In the merozoits the nodes become more and more conspicuous and the network less so, until the network is lost, usually at one end of the nucleus first. The

chromatin bodies of the sporozoit, about sixteen in number, though at first small and scattered, become so sharply defined that they look like masses of shot (Fig. 74). They increase in size and stain deeply as the nucleus passes from a round or oval to a much elongated form. By this time there is no evidence of achromatic material. The nucleus as a whole shrinks considerably when the sporozoit approaches maturity.

The zygocyst (Fig. 74) may contain from 24—32 sporozoits. There is no regularity in their arrangement within the cyst. The latter is a somewhat flattened spheroid. The evidence of flattening is conclusive. In Figure 74 the sporozoits lie one over the other about three or four deep and without any considerable space between them. In planes parallel to that of the paper they lie side by side, end to side, or end to end, and with very little space between. The greatest number arranged side by side and not overlaping, is seven. There is space for at least six across the shortest diameter in this plane. Since the sporozoits are only three to four deep in a direction perpendicular to the plane of the paper, whereas they lie in ranks of from six to seven in a plane parallel with it, the conclusion is unavoidable that the cyst must be flattened if the sporozoits are assumed to be cylindrical; but there is evidence that they, too, are flattened in the same direction, and this implies a still greater flattening of the cyst. The same argument applies to the chromatin bodies of the sporozoit nucleus; their arrangement indicates that the sporozoit is flattened in the same direction as the cyst. Lutz (1901) states that the cysts of *D. serpentium* are also oval in cross section. The presence of a residual body in the mature zygocyst of *H. stepanovi* has not been observed, but spaces between sporozoits are sometimes occupied by vacuolated cytoplasm, which probably remains when the cyst bursts, as is the case with micro- and macrogametocysts (page 348). The external form and internal structure of a sporozoit in the cyst is essentially the same as that of a free individual (Fig. 75), such as is described on page 334.

The sporulating zygote of *H. stepanovi* is without a cyst wall of its own, having only the excavated erythrocyte as a protection. But in gametocytes one can demonstrate a pellicle in which the extruded chromatoid granules are lodged (Plate XVI, Figs. 45, 46, 52). These envelopes I believe to be composed of the same secretion as the gelatinous material that trails behind motile gametocytes (Pl. XVII, Fig. 107). But there is no evidence of this pellicle in either sexual or asexual sporulating individuals. Labbé (1894) found in *Drepanidium*

that sporulated parasites possessed a thin covering, in which extruded granules collected and fused to form a cyst wall, and LUTZ (1901) describes in *D. serpentium* a definite cyst wall, which resists the action of stains. It seems probable that both LABBÉ and LUTZ may have encountered the fused granules in the pellicle of gelatinous material. A definite functional cyst probably does not exist in *H. stepanovi* or the nearly related *Haemosporidia*. Instead, there is without doubt a thin layer of extruded material, sometimes laden with chromatoid granules, which may at times adhere to the corpuscle and at others to the parasite. In fixed material this layer may be seen stretching from the parasite to the erythrocyte. But it never assumes any importance in sporulating stages.

It is difficult to reconcile the above with LABBÉ's (1894) account of conjugation and sporulation in *Drepanidium monilis* and *Karyolysus*. He states that in an adult individual encystment takes place after a folding which brings the ends into contact. Fusion of the two limbs thus formed results in a spherical body. Such an encysted individual may arise from a conjugated or from a nonconjugated individual. The cytocyst grows, its nucleus divides, and a nuclear membrane is formed around the daughter nuclei; at length the protoplasm itself divides. Some cysts form "microsporozoits", about 15 in number and 5 μ to 6 μ long, while others produce "macrosporozoits", fewer in number and 7 μ to 8 μ long.

For *Karyolysus* the same general facts are related. However, LABBÉ here distinguishes two sorts of individuals, one having a looped form in the blood corpuscles, the other being without a loop. These he considers the two types that give rise respectively to the small spore cysts and the large spore cysts. The cytocyst resulting from the conjugation of these two types of spores is oval or round and is provided with an envelope. The chromatoid granules are extruded, the nucleus loses its membrane and the chromosomes form a nuclear star, which moves to the periphery. LABBÉ considers this a mitotic figure. He saw no centrosomes, but in one case the remnants of interzonal filaments connecting the daughter nuclei. Seven to eight chromosomes are present.

V. Structure of the sporozoit.

Each sporozoit (Plate XVII, Fig. 75) is a flattened elongated structure measuring about 9,8 $\mu \times$ 2,3 μ, with a barely distinguishable taper and with both ends bluntly and about equally rounded. The nucleus lies nearer to the anterior than the posterior end. It has an oval outline and measures 4,2 $\mu \times$ 2 μ; it varies somewhat in shape, the sides being sometimes parallel, at other times tapering to both ends, which are either squarish or evenly rounded. The nucleus contains sixteen chromatin masses of large size, which stand apart from one another and do not show any achromatic matrix. During its growth the sporozoit changes its relative proportions, the breadth increasing more than the length. The cytoplasm undergoes no other noticeable changes. The nucleus on the other hand, with the first increase in size of the parasite begins to undergo marked changes. The chromatin bodies enlarge considerably and divide, but usually not all at the same time (Pl. XVII, Figs. 94—97), so that there may be large chromosomes and smaller daughter chromosomes in the same nucleus. The total number is usually between eighteen and thirty-two. In Figure 97 the number approaches thirty-two. Immediately after their division the chromosomes become small and stain less deeply. They then appear in pairs (Figs. 94, 95, 97). In Figure 97 the division of the chromosomes has been nearly simultaneous and consequently dyads are numerous and isolated.

The next step is marked by a rearrangement of the contents, the nucleus becoming spherical. The chromatin bodies diminish in size and the achromatin becomes conspicuous (Pl. XVII, Fig. 98). In the changes which follow, both the cytoplasm and the nucleus become transversely elongated (Figs. 99, 100), while the chromatin bodies continue to diminish in size and number and the achromatin to become strongly stainable (Fig. 101, 8,5 $\mu \times$ 12,8 μ, nucleus 4,5 $\mu \times$ 5,2 μ). The posterior end of the schizont is now considerably larger than the anterior end; it is composed of more highly refractive and less vacuolated protoplasm than the former, and it contains the nucleus. Large vacuoles have now taken the place of most of the alveolar spaces in the network. This is always an indication of approaching cleavage.

VI. Schizogony.

As far as I have been able to discover, the division of the nucleus of the schizont in sporulation differs in no marked way from that of the zygote. A slight variation in the appearance of the different stages exists, which suggests that there may be a difference throughout the cleavage stages, but it has not been possible to gain any satisfactory proof of this. It is fairly certain, however, that in the first, second, third, and fourth schizont cycles the number of merozoits produced in a cyst is much smaller than that of the sporozoits in the zygocyst. In spite of the fact that there is no very marked difference in the structure of the cysts with 16 to 20 young and the typical zygocyst with 32, other considerations have seemed to me to justify the conclusion that the former is produced by a schizont. It is certain that there are cysts having 24, 20, 16, 12, 10, 8, 6, 4 and 2 merozoits, and that those at the beginning of this series as I have arranged them, are nearer the zygocyst than are those at the end. The greater the difference between the maximum number of young in a cyst (32) and the number contained in a given cyst, the easier is it to distinguish the merozoits from sporozoits (pages 336). But the offspring of a cyst having 20 to 24 young are, so far as my observations go, indistinguishable from sporozoits. It is altogether possible, therefore, that the cysts having 20 to 24 young are zygocysts. If so, it follows that sporozoits as well as merozoits may develop into micro- and macrogametocytes, inasmuch as we have been able to connect the sporozoit type of young with the gametocyte generation. But the original hypothesis, that there are merozoits which resemble sporozoits, is borne out by the evidence given on page 338, by which I have attempted to prove that the conjugating individuals and their cysts with few merozoits appear at the end of a period of asexual multiplication, while zygocysts, sporozoits, and schizont cysts with many merozoits occur at the beginning of such a period. If an alternation of generations does exist within the blood of the turtle, conjugation should result in a zygote having greater power of reproduction than before and the number of young should decrease toward the end of the series of asexual generations. Sporozoits should be in the earlier generations almost as prolific as a zygote. We may, then, consider the young of the 24-spore cysts as merozoits. That the cysts having fewer young are schizont cysts is certain, since their merozoits are easily distinguished from sporo-

zoits. There is some evidence that the merozoits become less and less like sporozoits from one asexual generation to another. Under favorable conditions it ought to be possible to distinguish all merozoits from sporozoits, but until this can be done the existing evidence seems to justify the assumption that sporozoits are sometimes very similar to merozoits.

In tracing a sporozoit through one cycle of schizogony we have given the history, as far as we have been able to discover it, of the development of a merozoit from a schizont cyst having the maximum number of young. Those merozoits which arise from a cyst having 12 to 16 young are distinguishable from sporozoits, because they have a nucleus which is shorter, thicker, and blunter at the ends than the nucleus of a sporozoit or primary merozoit. Moreover, in such merozoits the chromatin bodies are not as uniform in size and shape, they are less conspicuous, and the achromatic matrix is developed earlier (Plate XVII, Figs. 71—73) than in primary merozoits and in sporozoits.

Merozoits from cysts having from 5 to 8 young (Plate XVII, Fig. 69) are a little easier to distinguish from sporozoits than are primary merozoits. They differ from primary merozoits in the degree of variation from sporozoits, but not in the quality of the variations. The characters are well shown in Figure 72, where it will be seen that the nucleus is larger, thicker and more ovate than in either Figure 73 or 75. The chromatin bodies are larger and less uniform in size and shape than in Figure 75. The difference in sharpness of outline does not come out well in the reproductions. In the course of their development these typical merozoits pass through the same growth changes as the sporozoit. The nucleus of an individual destined to undergo schizogony develops chromosomes of large size, which divide (Plate XVII, Fig. 97) and give rise to from 20 to 30 smaller ones. Then follows the usual diminution in size and ultimate loss of chromatin bodies and the accumulation of achromatic material. The last named point is shown in Figure 102, which is a typical secondary schizont in which only a part of the chromatin bodies have been lost. When compared with a primary schizont (Fig. 98) this type of schizont is markedly different, almost to the same degree as are their young (Plate XVII, Figs. 72 and 75). But they reach a stage in their growth when they are almost if not quite identical with each other. This happens when the period of schizogony is approached (Figs. 98—101).

The cleavage of schizonts belonging to the early asexual gene-

rations is, as far as known, identical with that of primary schizonts. There is, however, a type of mature schizont (Fig. 103) associated with the late-generation cysts, which has numerous chromatoid granules and a nucleus of deeply staining material arranged in two transverse belts, or bars, similar to the parallel bars in the cleavage of the zygocyst. If these parallel bars are analogous to those encountered in the zygote (Plate XVI, Figs. 27, 28), it seems reasonable to regard them as remnants of a spindle, and to assume that we have here an atypical spindle similar to that described by SCHAUDINN (1900) in Coccidia and in the late cleavage nuclei of *Plasmodium vivax* (1902[b]).

Cysts having four merozoits have not been encountered in a mature condition. We have the immature merozoits in Figure 67 (Plate XVII) and a two-cell stage in the act of dividing in Figure 66. It is probable that in this case the result would have been a four-cell cyst because of the size of the cyst and the relation of the planes of cleavage. That two-and three-merozoit cysts exist, and that they are derived from a merozoit of a late schizont generation, like those in Figures 67, 69, and 72, is quite certain. Associated with gametocytes arising from a late schizont generation (Plate XVII, Fig. 86), it is very common to have a good sized secondary merozoit, with sharp angles at the corners of its slightly bent body and with a very long nucleus composed of a coarse network. Along with this type a few cases have been found which are identical with it in form, but in which the nucleus is dividing (Fig. 87). Similarly shaped individuals with a nucleus at each pole are also not uncommon (Fig. 88), and cases with two and three merozoits in various stages of maturity are very abundant (Figs. 89—92). In view of this fairly complete series, — many connecting stages having been omitted from the illustrations, — there can be little doubt that late schizonts give rise to only two or three merozoits. Such a diminution in the reproductive capacity of the schizont is alone sufficient to suggest an alternation of generations in this species. In Figure 93 we have two merozoits being differentiated out of a cyst in a manner which is characteristic of this stage. There probably would have resulted from this division a non-nuclear remnant like that shown in Figure 91. The cyst is apparently derived from a large schizont.

In the general outline of the life-history I have stated that a sixteen-merozoit schizont cyst contains young all, or the greater part, of which are probably destined to become schizonts, whereas merozoit cysts containing from two to eight young are destined to produce

gametocytes in a greater proportion than schizonts. This is, of course, conformable to the usual course of events among protozoa when an alternation of generations exists. The evidence of an alternation of generations in this species is to be found in the following facts. We have two turtles, both very highly parasitized. It is not difficult to show that the blood of these two turtles is infected by parasites the stages of which differ widely from one another. But careful search reveals some representatives of all stages in both turtles. Moreover, all the stages can easily be connected with one another, proving that the parasites are not individuals of separate species. In one of these turtles zygocysts, schizont cysts with numerous young, sporozoits, and merozoits are very abundant. All of these stand near the beginning of the asexual generation. On the other hand, merozoit cysts with few young, gamete cysts and gametes are extremely rare. In the other turtle, zygocysts, schizont cysts with numerous young, and the young of both kinds of cysts are extremely rare, while gametes, gametocysts, gametocytes and schizont cysts with few young, are very numerous. Evidence, that the capacity to reproduce asexually diminishes as the sexual generation is approached and that sporozoits produce schizont cysts with many young, is seen in the distribution of the several types of schizont cysts — namely those with two, three, four, five, six, etc., up to sixteen, young on these slides. The cysts with many young are associated with the zygotes and the cysts resulting therefrom, while cysts with few young are associated with gametocytes and the stages immediately preceding conjugation, but not with conjugating individuals themselves, nor with zygotes nor zygocysts. One other observation bears on this conclusion and adds weight to the view that the cysts with two to six or eight young are differently constituted from those having numerous merozoits. We find in the first turtle here mentioned, namely the one bearing the asexual generation, very few young gametocytes of any kind, a dearth of those corresponding to a^1—c^1, A^1—C^1 in the Diagram (Plate XVIII), whereas merozoits and schizonts in all stages of development are extremely abundant. In the second turtle, that having the incipient sexual generation, these so-called secondary gametocytes (a^1—c^1 and A^1—C^1) are very abundant and the schizonts are of a type different from those of the first turtle. Now, these secondary gametocytes can be traced back directly to the schizont cysts having from two to six merozoits. On the other hand, the gametocytes of the first turtle can always be traced back to merozoits coming from a schizont cyst

having many young; moreover these two types of gametocytes differ in structure as well as in their origin. (For these differences see page 345; compare also Plate XVI, Figures 32—50 with Plate XVII, Figures 77—85.) This evidence seems to warrant the establishment of a distinction between the two types of cysts and the two types of gametocytes such as we have indicated in the Diagram by the names *primary* (a—c, A—C) and *secondary* (a^1—c^1, A^1—C^1).

Alternation of generations in *Haemosporidia* is not peculiar to this species. SCHAUDINN (1902) demonstrated an alternation of sexual with asexual stages in *Plasmodium vivax*, and OPIE (1898) showed that all stages of *Proteosoma* could be found in the blood at the same time, one, however, usually predominating.

VII. Gametocytes.

(Plate XVI, Figs. 32—50.)

Inasmuch as we can not distinguish a sporozoit (Stage IV) from a merozoit of the first schizogonous generation (IV^1), we are unable to say whether gametocytes do or do not arise directly from sporozoits. It is of little consequence, however, so far as the supposed life-cycle is concerned, whether gametocytes arise from both merozoits (Stages IV^1, IV^2, IV^3, IV^4) and sporozoits (Stage IV), or from merozoits alone. That a merozoit may thus develop, we are able to prove by tracing the development of the merozoits designated in the diagram as IV^3. These we know to be merozoits rather than sporozoits because they are formed in schizont cysts having few young. We also have strong evidence that merozoits so resembling sporozoits as to be thus far indistinguishable from them, and capable of being connected by a genetic series of stages with gametocytes, are in reality primary merozoits (IV^1). We have already (p. 338) stated that in the late schizogonous generation the schizont cysts having few young greatly outnumber those having many young. If the relative number of schizonts and gametocytes is compared, it becomes evident that in the turtle having the products of conjugation (zygotes) the schizonts are in greater proportion to the gametocytes than they are in the turtle having a preponderance of late schizont cysts (VII^1, VII^2, VII^3). This fact indicates that primary merozoits become schizonts in greater numbers than merozoits from cysts of

late schizogonus generation. It follows, then, that sporozoits and perhaps also the first generation of merozoits seldom or never develop into gametocytes. Because of this consideration and the uncertainty regarding the origin of gametocytes due to the present lack of a distinction between primary merozoits and sporozoits, I shall disregard the course indicated in the Diagram by the lines from IV to *a* and to *A*.

A. Primary gametocytes.

The changes which a primary merozoit (Plate XVII, Fig. 75) undergoes in becoming a gametocyte are markedly different from those by which it prepares for schizogony. During growth in the prospective gametocyte the increase in length is proportional to the increase in thickness, whereas in the schizont the growth in thickness exceeds that in length. In the former the chromatin bodies, instead of increasing in size as they do in the schizont, decrease in size, whereas the achromatic substance increases in amount (Plate XVI, Figs. 32, 33). At the same time, the nucleus shortens and becomes condensed into a spherical homogeneous dense mass, which, for reasons to be discussed later (page 355), I have called a karyosome. These changes in the nucleus may follow or precede the production of a tail flexure at the posterior end and the other changes in external form (Fig. 34), but sometimes the two take place simultaneously. Such a lack of correlation as to time in the changes of cytoplasm and nucleus will appear throughout the microgametocyte and macrogametocyte generations.

1. Microgametocytes.
(Plate XVII, Figs. 32—43.)

The microgametocytes and macrogametocytes run parallel courses in their growth up to about the time the tail flexure appears in the cell body or the alveolar spaces appear in the karyosome (page 355). The first noticeable difference between them is the way the nucleus passes out of the karyosome stage. In the microgametocyte the karyosome enlarges and several clear spaces appear in the homogeneous area of the dense achromatic karyosome, in which there are one or two deeply staining nodal or chromatin bodies (Plate XVII, Figs. 35, 36). This condition gives place to a coarse network, like that of the daughter nuclei in the zygote, and this in turn gives

rise to a finer network with an increasing number of chromatin bodies, some of which are at the nodes, and others attached to the nuclear membrane (Fig. 37). Meanwhile the nucleus as a whole elongates and begins to move from the anterior to the posterior end of the parasite. The tail flexure at this time (Fig. 36) is usually about half the length of the major portion of the body. The cytoplasm of a microgametocyte is uniformly of a coarse alveolar structure, very similar to that of a merozoit, but it has at the anterior end a homogeneous region free from alveoli. This homogeneous region usually appears at about this stage and continues to become more conspicuous up to maturity (Fig. 41). Danilewsky (1887) observed this anterior region and Labbé (1894) mentions it in *D. monilis* and *D. princeps* (*Lankestrella minima* Hintze), but Hintze (1902) does not seem to have seen it. In *Haemogregarina stepanovi* it was overlooked by Börner (1901) and Simond (1901[a], 1901[b]). Lutz describes a dense granular area at one or both ends of large *D. serpentium*. The flexed tail portion increases in length until it is almost as long as the main body (Figs. 39, 40, 42).

The most interesting changes take place in the nucleus. These are, however, more or less misleading at first, owing to the lack of synchronism in the changes of different parts of the nucleus; but when it is once understood that the changes are always progressive, though all parts of the nucleus do not advance together, all apparent discrepancies are easily explained. At one stage a network condition may predominate (Figs. 38, 40, 42 β), at another the chromosomes and nuclear membrane are more conspicuous (Figs. 39, 42 α). In general the coarse network becomes fine and the chromatin bodies increase in number and distinctness until there are sixteen or more of them. The nucleus meanwhile has elongated until its length is two or more times its width (Figs. 41, 42). The chromosomes at times have a strikingly symmetrical arrangement, in certain cases giving the appearance of three parallel rows of bodies (Fig. 41). Some of these bodies appear to be attached to an enveloping membrane, while fibrils stretch from them to a middle row of large chromatin masses. At length the chromatin bodies begin to divide, and the non-chromatic network to disappear (Fig. 42 α). Ultimately the nucleus is three times as long as wide, and contains sixteen to thirty-two divided or dividing chromatin bodies limited by a sharp outline (Fig. 43). There is, however, no longer any evidence of a nonchromatic network, and in subsequent stages (Figs. 50, 51, 52) the nuclear membrane also is absent. The nucleus in Figure 42 β

is apparently passing from the condition seen in Figure 42 a to that in Figure 43.

In *Drepanidium* (Labbé, 1894) the young "micro-" and "macro-sporozoits" are 6 μ to 7 μ long and taper toward the posterior end. They grow by elongation, accompanied by both an increase in the number of vacuoles, and a multiplication of chromatoid granules. Three regions are distinguishable, anterior, middle (containing the nucleus), and posterior.

2. Macrogametocytes.

(Plate XVI, Figs. 44–50.)

The description of the macrogametocyte was left at the karyosome stage. It is quite impossible to distinguish, either by the external form or by the appearance of the protoplasm, some of the young macrogametocytes from young microgametocytes. The former usually differ from the latter in the way the nucleus passes out of the karyosome stage, as well as in the shape of the half-mature individuals. The cases selected to illustrate this are not all typical in regard to the structure of the nucleus, because it was desirable to show external characters as well. Figure 44 has a nucleus just emerging from the karyosome stage (Fig. 34), while the shape of the parasite and the presence of chromatoid bodies are indicative of an advanced stage of development. But if one selects a parasite with a nucleus of this type. and an external form correspondingly young, it might be objected that it is not a macrogametocyte. It is therefore necessary to show that this type of nucleus is characteristic of a macrogametocyte. The conditions shown in Figure 44 (and many such cases exist) tend to prove this. The enlarged anterior end, the presence of chromatoid bodies, and the large tail flexure flattened against the main portion of the body are unquestionable evidences that this is a macrogametocyte, for a nucleus of this kind is never found in a microgametocyte. Microgametocytes are as a rule without chromatoid bodies, though some are abundantly supplied with them (Fig. 40). They are therefore not a very reliable criterion if considered alone, or if the number of examples is limited. But the external proportions, when differentiation in the external form has once appeared, are quite trustworthy in dealing with gametocytes. This fact may be established by the study of cases in which the nucleus is sufficiently advanced to be identified as belonging to a macrogametocyte. The changes by

which the karyosome stage of the macrogametocyte becomes a network are equivalent to, but not exactly like, those which have been described for the microgametocyte. The karyosome develops irregular crevices, which reach to the surface (Fig. 44; Plate XVII, Fig. 112), instead of uniformly distributed spaces (Figs. 35, 36). The nucleus is usually quadrangular or circular in outline (Fig. 45); it is more rarely ovate (Fig. 47), but never as long as the nucleus of the microgametocyte. The network is imperfect, being made of irregular fragments and strands of achromatin. One or two chromatin bodies appear very early on these fragments (Fig. 45). Eventually this gives place to a finer irregular network with beadlike chromatin bodies unevenly distributed over it (Figs. 46, 47, 48). Sometimes the network appearance is absent, owing to the irregularity in the degree of development of different parts of the nucleus (Fig. 49). One seldom finds precisely sixteen chromatin bodies in a macrogametocyte nucleus, because some of the bodies enlarge (Fig. 49) and divide before the others have developed out of the achromatic network. In all cases the achromatin disappears in proportion as the chromatin bodies become differentiated.

The changes in external form and in the structure of the protoplasm in the macrogametocyte have no definite relation to the nuclear evolution. Aside from the condition of the nucleus, the first distinctive characteristic of a macrogametocyte is the relatively great thickness of the anterior end (Figs. 44, 45, 46; compare with microgametocyte, Figs. 36, 38, 39). Usually the nucleus moves back to the region of the tail flexure earlier in the macrogametocyte than in the microgametocyte, but cases like those shown in Figure 37 and in Plate XVII, Figure 112 render this an uncertain criterion. As a corrollary to the greater thickness of the body in the macrogametocyte, the tail in this form usually makes a sharp angle with the body, and the edge of the base of the tail overlaps the posterior end of the body more or less (Figs. 44–46, 48, 50; Plate XVII, Fig. 112). But if the parasite is twisted in the corpuscle, or the flexure is far back on the slender portion, this overlapping condition may not exist (Figs. 47, 49). It is difficult to find young of either the micro- or macrogametocytes in which the tail end is beginning to become flexed. Figure 34 shows the nearest approach to that condition seen among primary gametocytes. But among secondary gametocytes there are numerous cases of it (Plate XVII, Figs. 79, 80, 84). This absence of initial stages, together with the great variation in the appearance of the tail, as to length, thickness and

manner of joining the body at the flexure, and the fact that all gametocytes when set free, straighten out (Plate XVII, Fig. 107), lead to the conclusion that the flexure takes place rather suddenly, at a time when the parasite begins to be crowded, and that the place of bending depends on the position of the parasite in the corpuscle, in brief, upon the mechanical conditions prevailing. This being the case, the caudal flexure is of secondary importance in deciding the age or type of a given parasite. Börner (1901) states that the parasite becomes smaller at one end, that a small process then forms at this end, and that it gets larger while the body part is reduced in size. He also figures a schizont as the first stage of the gametocyte and states that encystment takes place outside the corpuscle.

The anterior end of the macrogametocyte, like that of the microgametocyte, is made of a denser homogeneous, or non-alveolar protoplasm, but this region does not extend back as far in the macrogametocyte (Compare Plate XVII, Figs. 106, 107, 108). In living macrogametocytes two vacuoles are usually visible, one in front of and one behind the nucleus (Fig. 106).

As many of the characters of both micro- and macrogametocytes are not constant, it might be argued that they are one and the same type. This can be disproved, however, by comparing two mature individuals. If Figure 38, a half mature microgametocyte. is compared with Figure 45, which, judged by the appearance of its nucleus and by its size, is in about the same stage of development, it will be noted that in the latter the anterior end is very much thickened and the nucleus is not at all elongated. This contrast, though not so marked, is likewise seen between Figures 37 and 47, between Figures 42 and 48, 107 and 109, 106 and 108. In all these the microgametocyte has a much elongated nucleus which is located near the anterior end; it also has the anterior end but little thicker than the middle region, while the macrogametocyte has a short or square nucleus and a very much thickened anterior end.

Both micro- and macrogametocytes push the nucleus of the corpuscle out of place more or less, though now and then one finds a half-grown parasite within a corpuscle the nucleus of which is undisturbed. Ultimately the nucleus is pushed to one side or one end (Plate XVI, Figs. 37, 38) of the corpuscle, and by the time the parasite has entered on the process of sporulation, it is somewhat flattened (Fig. 52). The gamete cysts do not as a rule flatten the nucleus as much as schizonts (Compare the gamete cysts Plate

XVII, Figs. 59, 60, 62 and 63 with the schizont cysts, Figs. 69 and 70).

B. Secondary gametocytes.

(Plate XVII, Figs. 77—85.)

Gametocytes arising from merozoits (IV[s]) produced by a schizogony with few young (2, 4, 6, 8) differ in appearance, at the very start, from those just described. In the very young secondary merozoit, as has been explained (p. 336), the nucleus is large, much elongated, and has large deeply staining chromatin bodies. The secondary merozoit (Plate XVII, Figs. 72, 73) is rather thicker than a primary one, and the alveoli of the protoplasm are less uniformly distributed. The chromatin bodies gradually give place to a homogeneous, non-achromatic substance (Fig. 77), and at length there remain only one or two chromatin masses or none at all (Figs. 78, 84). Sometimes the metamorphosis proceeds more rapidly at one end of the nucleus than at the other, so that only a part of the nucleus becomes at first an unbroken mass of achromatic substance (Fig. 79). Eventually spaces are developed in the achromatin (Figs. 78, 79, 82, 85); this is succeeded by a coarse network in which either a few chromosomes persist (Fig. 80) or, at length, none at all (Fig. 81). New chromatin bodies develop on the inner surface of the nuclear membrane (Fig. 83), or at the nodes of the now finer network (Fig. 84), or at both places (Fig. 80). The nucleus slowly assumes the same form as that of a primary micro- or macrogametocyte. For a long time the characteristic pale appearance of the cytoplasm distinguishes a secondary from a primary gametocyte, but eventually this difference disappears.

Changes in the external form are, as in other stages, not correlated with internal changes. Great variation prevails in the size and appearance of the caudal flexure (Plate XVII, Figs. 79, 80, 81 = macrogametocyte; Figs. 84, 85 = microgametocyte). The distinction between secondary microgametocyte and the secondary macrogametocyte is here, as in the primary series, the greater length of the nucleus and the more slender form of the body of the microgametocyte.

The occurrence of primary and secondary micro- and macrogametocytes in this species probably accounts for the two so called new species of haemogregarines in the blood of Cistudo Europea (*H. stepanowiana* and *H. rara*) described by LAVERAN ET MESNIL

(1902). The former is no doubt a macrogametocyte. It is described as oval or reniform in the young, folded in the adult, but with the limbs unequal both in length and in thickness, having the nucleus located in the long limb, never at the angle of the fold. It measures 18 μ to 20 μ (i. e. it is shorter than the microgametocyte). The nucleus is round or oval. The other type, *H. rara*, was described as follows; when in a blood corpuscle, it has the body (15 $\mu \times$ 2 to 3 μ) curved. One extremity is rounded, the other is more attenuated, and the nucleus is very long, having a more or less homogeneous appearance when stained. A glance at Figures 82 and 83, Plate XVII, and Figure 86, Plate XVII, reveals a general correspondence with these details. This type, described as *H. rara*, is probably a late secondary schizont.

VIII. Sporulation in the gametocytes.

(Plate XVI, Figs. 51—58; Plate XVII, Figs. 59—65.)

In the formation of their gametes the primary and the secondary gametocytes are indistinguishable. It is possible that differences exist, but if so, they have escaped detection. The mature gametocyte may lose the tail flexure before or during the first division of the nucleus (Plate XVI, Figs. 24, 25), or not until after the last division of the nuclei (Plate XVI, Figs. 54, 55). An approaching sporulation is indicated by vacuoles in the cytoplasm (Plate XVI, Figs. 19, 20). With the appearance of the vacuoles the chromatin bodies divide, a few at a time, until there are about thirty-two (Figs. 20, 21). Sometimes several of the parent chromatin bodies have the form of a dumb-bell with the connecting part very long. The daughter chromosomes collect into two groups, which always take up a position such that a line connecting them will be parallel to the long axis of the parasite. Until after the first cleavage they occupy that portion of the parasite which was originally the anterior or main part of the body. In Figure 53 (Plate XVI) the convex side of the body was originally the anterior part, the upper nucleus lying near the point where formerly was the angle of flexure. This we know, because the convex side marks the anterior region in practically all gametocytes before the tail is fused with the body, and because the tail region on the concave side can be recognized

in a great many cases by its external outline and by the characteristic appearance of its protoplasm. It is usually pale and transparent. Even in the second cleavage the anterior and posterior regions are more or less apparent at times (Figs. 54, 55, 56).

Before the second division, the chromatin bodies are re-formed into about five to eight very large masses (Fig. 53). They divide again before the next cleavage and the daughter chromatin bodies lose themselves in a deeply staining non-achromatic mass, either immediately or at least before the next division. Precisely as in the case of the first cleavage, the division of the chromatin bodies is not simultaneous. The second division resembles that of the first in appearance and in its results. There may be a second cleavage of only one of the two daughter nuclei, and there may be a third cleavage of one, two or more of the more usual four daughter nuclei, thus giving stages with either five (Figs. 54, 55), six, seven (Figs. 57, 58) or eight nuclei in the macrogametocyte. In the microgametocyte as many as ten have been observed after the cleavage of the nucleus is completed. The tail portion of the gametocyte may persist (Plate XVI, Fig. 54, 55) and may sometimes be seen even after the gametes are well formed. As a rule, however, it fuses with the body along their apposed surfaces before the nucleus divides. This process of fusion usually proceeds from the angle of flexion forward, leaving for a time the tip of the tail separated from the body and appearing as a tooth-like projection when the body is seen in profile (Figs. 51, 52, 56). In some macrogametocytes the tail becomes flattened on to the body, forming around it a partial sheath, the edges of which fuse for a time with the body, thus forming a sort of pocket between the body and the free median portion of the tail (Fig. 52) The fusion of tail and body before cleavage was observed in gametocytes and correctly interpreted by SIMOND (1901[b]). LABBÉ (1894) observed in schizonts of *Drepanidium princeps* a similar process before sporulation. It is also described by HINTZE (1902) in the same animal (his *L. minima*). In *Lankestrella*, however, there is no protracted period of flexure. In this species immediately before sporulation the posterior and anterior ends are approximated and fusion along the line of contact takes place.

As in the case of schizogony and amphigony, the cytoplasm of the mature gametocyte becomes highly vacuolated. The characteristic chromatoid bodies of the macrogametocyte occasionally persist (Fig. 55), but as a rule they do not, and the cytoplasm is very pale. When the nuclei have undergone their last division (Figs. 57, 58),

each contains six to eight large deeply staining chromatin bodies together with more or less achromatin. The nucleus is small and irregular in form. It is now ready for reorganization into a gamete nucleus. The several dense chromatin bodies fuse into a single irregularly shaped, deeply staining mass, many times larger than the preexisting nucleus (middle nucleus of Plate XVII, Fig. 59). Pale regions appear in the achromatic mass or karyosome thus formed. These are the forerunners of vacuoles, which at length lead to the condition of a coarse network. Then the nucleus as a whole begins to shrink, and becomes elongated, while the network becomes finer, and chromatin bodies appear on the nuclear membrane and at the network nodes (Figs. 54, 58, 60). The ultimate differentiation of the chromatin bodies is delayed until the gametes are set free (Figs. 61—65). The differentiation of the body of a gamete begins with its anterior end. A portion of the cytoplasm around the nucleus becomes sharply delimited, as seen in Figure 93 (Plate XVII). The differentiation proceeds backward from this region. Sometimes considerable protoplasm remains unused (Figs. 62, 64).

Up to this time, there is no marked difference between the sporulating micro- and macrogametocytes except in the external appearance. When mature, the micro- and macrogametes differ in both size and shape and the cysts differ in the number of contained gametes. Macrogametocysts contain four to five macrogametes, rarely six to seven. Microgametocysts, on the contrary, contain six to eight or rarely ten microgametes. In *D. serpentium*, Lutz (1901) found from 2 to 20 macrosporozoits (macrogametes) and from 30 to 300 microsporozoits (microgametes) in their corresponding gamete cysts.

IX. Gametes.

(Plate XVI, Figs. 1—9.)

The two kinds of Gametes in their cysts are easily distinguished from each other. Microgametes measure 7 $\mu \times 1{,}5\ \mu$ and have a very long nucleus. They are slender and taper rapidly toward the posterior end. The anterior end is bluntly rounded. The cytoplasm is pale and contains a few alveoli similar to those in the nucleus of a merozoit. There are frequently one to several small chromatoid bodies at one or both ends (Fig. 1). When the microgamete is set

free, its nucleus has seldom, if ever, passed beyond the stage of a network with chromatin at the nodes. The nucleus constitutes a large portion of the microgamete.

The macrogamete in its cyst measures 7 $\mu \times$ 2,2 μ. It is thicker in all parts than the microgamete and the taper is hardly noticeable, while both ends are bluntly rounded. The cytoplasm is made up of a coarse network of a homogeneous hyalin substance, the network having small meshes of rounded or ellipsoidal form. The macrogamete may, now and then, have chromatoid grains, but as a rule it is without them. The nucleus is elongated, but it is not more than once and a half as long as wide, while that of the microgamete is more than twice as long as wide. The nucleus of the macrogamete while in its cyst is usually in the network stage with chromatin bodies more or less developed at the nodes.

At the time of conjugation the nuclei of the gametes may, however, be in any of the above mentioned stages of developement. When in the network stage, they apparently have ample time after conjugation to pass through the nuclear cycle and develop chromatin bodies (compare Figs. 8 and 5). The protoplasmic conditions vary only in regard to the size and shape of the conjugants. If both are young, the forms are essentially those of gametes in the cyst. But either one or both may be advanced in growth. The microgamete (Fig. 4) may thus resemble a merozoit (Plate XVII, Fig. 98) in having a length equal to the merozoit and in having much less taper toward the posterior end than at an earlier period of its growth. When young the microgamete differs from the merozoit in that the chromatin bodies of the nucleus are undergoing progressive development, whereas in the merozoit the chromatin bodies usually show signs of retrogressive change. The macrogamete of advanced growth (Fig. 4) is much thicker in proportion to its length than the schizont, and besides, it has a nucleus in process of chromosome development.

The conditions which are met with during conjugation have been described on page 322.

X. Structure, locomotion and general physiology of living *Haemogregarina stepanovi* in the turtle's blood.

The trophozoits of *H. stepanovi* all have a fairly uniform alveolar structure of dense grayish protoplasm with dark translucent substance in the oval alveoli (Figs. 106—110), and as far as my own observations go, are without a differentiated ectoplasm. However, the anterior end of the gametocytes, and of a few mature schizonts, is homogeneous (Fig. 100). The meshwork may at times have a granular structure. Danilewsky (1885) and Labbé (1894) considered the protoplasm to be simply granular; but Börner declares it to be alveolar in structure, he is however in doubt as to whether the granules which occupy the alveoli are "sporokrystalle" or liquids; but concerning the granular nature of the chromatoid bodies, there is no doubt. Lutz (1901) also supports the view of the alveolar structure for *D. serpentium.*

It happens occasionally in some stained preparations that the nodes of the network have the appearance of granules (Plate XVII, Fig. 110), but at the same time the alveoli are always clear and distinct. The nucleus in Figure 110 is abnormal and I have been inclined to treat the appearance of the cytoplasm as likewise unreliable. Hintze (1902) found the ectoplasm of *Lankestrella minima* hyalin and the endoplasm essentially granular or structureless. Schaudinn (1902) describes the structure of *Plasmodium vivax* as alveolar in appearance, though in reality probably reticular.

Myocyte fibrils and ectoplasm have been observed in *Lankestrella* by Danilewsky, Labbé and Hintze; but in *H. stepanovi* the cuticula, supposed by Danilewsky (1885) to exist, and claimed by Labbé to have been demonstrated, was not discovered by Börner. In both "*Drepanidium monilis*" and *Haemogregarina* (*Danilewskya* Lab.) Labbé was able, with the aid of gold-chlorid staining, to distinguish an outer epicyte, or ectosarc, having striations, and an inner reticulated plasma, having granules at the intersections of the fibrillae. The clear border surrounding the parasite in fixed preparations he considers as the result of shrinkage after death, because nothing of the kind is noticeable in the living object. All my efforts to demonstrate fibrillar structure with gold chlorid have failed. Accord to Lutz (1901) *Drepanidium serpentium* is invested by a cuticula.

The number of vacuoles in *H. stepanovi* is extremely variable. As many as three, two in front of the nucleus and one behind, or

vice versa, are not unusual. Beginning with DANILEWSKY, most observers up to the present time have reported two vacuoles in this species. Their absence at times may be significant, however, inasmuch as it suggests that their appearance and disappearance may be indicative of an excretory function.

In the ordinary preparations of *H. stepanovi*, it is seldom that the relative thickness of the parasites can be determined. On page 332 arguments are brought forward to show that the sporulating individuals are flattened, so that in cross section they are oval. Full sized schizonts and macrogametocytes when contained in blood corpuscles fixed by the wet method may be seen in side view. From these we learn that they, too, are slightly flattened. The two schizonts of medium size seen in Figure 114 (Plate XVII) are so folded as to show a flattened condition. Living micro- and macrogametocytes, as well as young schizonts, when free in the serum, sometimes rotate so as to present to view in succession all sides; but in all positions they appear to be perfectly cylindrical. These facts lead to the conclusion that the blood corpuscle itself exercises an influence on the form of the parasite causing it to be more or less flattened. The corpuscle, in turn, is distended and distorted.

As stated above, the chromatoid granules occur more abundantly in the macrogametocyte than in any other phase of the life cycle. But they may be found sparsely in some individuals of all generations and at times abundantly in an individual of any generation. Microgametocytes are usually free from them, but, as just stated, there are exceptions (Plate XVI, Fig. 40 and Plate XVII, Fig. 107). Schizonts sometimes have more than are shown in Figure 102. In whatever part of the life cycle they are found, they appear and disappear in exactly the same way that they do in the macrogametocyte, where they are most frequent and abundant. Here they appear one by one in the young forms, sometimes very early (Fig. 1, microgamete); as a rule they increase rapidly in the macrogametocytes (Figs. 44, 47, 109 represent average cases), up to a stage when the chromatin bodies begin to appear. It is at about this time that they usually begin to disappear, but they may have vanished entirely (Fig. 46) by this time. Sometimes many of them persist until late in cleavage (Plate XVI, Figs. 52, 55, 56). Eventually, however, they leave the cytoplasm pale and free from granulations. The method by which they are gotten rid of is easily demonstrated. Now and then, where all or part of them have been removed from the cytoplasm, dense irregular stainable bodies are to be found embedded

in the pellicle of gelatinous secretion surrounding the parasite (Plate XVI, Figs. 45, 46; Plate XVII, Figs. 87, 113). In some cases the appearance is as though the parasite had about it a row of large black beads. The pulp of the spleen and liver abound in dark bodies identical in appearance with these extruded chromatoid bodies.

These stainable granules were regarded by Danilewsky (1887) as related to a small protozoön parasite. He noted that they disappeared in the adult *Haemosporidia* and observed them outside the parasites in the blood corpuscles. Labbé (1894) distinguished three kinds of granules in the protoplasm of *D. monilis*, namely chromatoid, metachromatoid, and plastic. He noticed the chromatoid granules in the gametocytes of *H. stepanovi*. In *Drepanidium* and *Karyolysus*, he describes these bodies in great detail and makes note of their variable appearance and disappearance in the adults. He found them to be commonest in macrogametocytes, but considered them vital products of the cell. Börner (1901) also states that the granules decrease and disappear as the parasites grow larger. Lutz (1901) observed that the macrogametocytes, but not the microgametocytes of *D. serpentium* contain bodies which he believes to be paraglycogen. I take these to be the same as chromatoid granules. Schaudinn (1902[b]) observed them in all generations of *Plasmodium vivax;* Sacharoff (1893) in *Proteosoma*, and Opie (1898) in *Halteridium* and *Proteosoma*. Schaudinn (1902, p. 213) suggests that the lack of these granules in some individuals may be due to their longer existence in the serum. They thus have less haemoglobin to deal with. But if so, why should macrogametocytes of cold blooded hosts have so many more than microgametocyte and schizonts?

The locomotion of haemosporidia has been carefully studied by Danilewsky (1887) and Labbé (1894). The former believed that the waves of constriction which he observed to pass backward over the parasite were the cause of its locomotion. Labbé observed the debris which is trailed after the moving haematozoits. He regarded their mobility as due to their reaction to thermal, chemical, or electrical stimuli. Lutz (1901) observed that the *D. serpentium* attached itself at times by the posterior end, but that when it had plenty of fluid it glided away quietly. Hintze (1902) distinguished three kinds of motion in *Lankestrella*, as did also Schaudinn (1902) in *Plasmodium vivax*. First, a jerking motion, due to the bending together of the ends, and then the sudden straightening out of the

parasite; secondly a snake-like creeping motion, which he (SCHAUDINN) considered as possibly due to the gelatinous layer that, at the posterior end, terminates in a knob-like enlargement; and thirdly, a change in the form of the body. I have observed the two last mentioned motions and have seen the gelatinous extrusions at the posterior end of the parasite (Fig. 107).

The explanations of gregarine movements given by SCHEWIAKOFF (1894) and CRAWLEY (1902) may be considered as probably applicable to haematozoits, for the existence of a secretion accompanying the locomotion of *Plasmodium vivax* (sporozoit) has been observed, among others, by SCHAUDINN (1902[b], Fig. 1, p. 201). SCHEWIAKOFF considered the stiffened gelatinous hollow cylinder consisting of the layer of gelatinous fibrils secreted from the surface of the body, as a sufficient fulcrum to serve in the forward locomotion — the second of the three kinds distinguished by HINTZE. But CRAWLEY regards this explanation as insufficient. He has demonstrated a myocyte contraction, which is so executed that it gives the body a lateral thrust against the surrounding medium and thus forces the body forward, causing it to sway from side to side. In the absence of demonstrable myocyte fibrils in *H. stepanovi*, CRAWLEY's explanation is not applicable to this species. On the other hand, one case was observed where a free parasite became attached to a corpuscle by its trail of gelatinous debris, and thereby was stopped. At length it freed itself and then seemed to dart forward. If the gelatinous trail were a fulcrum, this could not happen. It was observed on several occasions that a number of corpuscles (four) were pushed ahead of a parasite which had no visible tail support, the anterior end bending to one side. These observations are opposed to SCHEWIAKOFF's theory and support CRAWLEY, but only in so far as they show the motive power to be located inside the parasite, or at least at some place in front of its posterior end.

XI. Distribution.

The earliest students of blood protozoa found that the blood contained in various organs and in bone marrow harbors a greater variety of stages, and likewise a larger proportion of parasite, than the circulating blood. DANILEWSKY, LABBÉ, LANGMAN, LUTZ, HINTZE

and Laveran have observed that the reproductive stages are largely limited to the bone marrow and certain organs. But these stages are not entirely lacking in the circulation. Now and then I have found both sporulating schizonts and sporulating gametocytes in circulating blood. There is very good reason to believe that the spleen, liver, kidney, lungs and bone marrow bring about sporulation in the mature parasites by some specific influence. In support of this view attention is called to one case in which the proportion of parasites to blood corpuscles in the splenic artery was 1 to 600, while in the splenic vein it was 26 to 600. If the spleen destroys blood corpuscles, the disproportion between the parasites found in the corpuscles of the artery and vein would be in part accounted for. But the ratio of young individuals to adults in the splenic artery is 1 to 41, in the spleen 1 to 6, and in the splenic vein 1 to 14. This would offset any claim that the destruction of the corpuscles in the spleen is responsible for the increased proportion of parasites in the splenic vein. More direct evidence in support of the theory of specific influence is to be found in the following facts. A very large proportion of the parasites, whether large or small, when ingested by white corpuscles, are either in the praesporulating stage, or are actually undergoing cleavage. This indicates that the white corpuscles may induce sporulation in the ingested parasites. Moreover, sporulating stages are frequently found grouped in unusual numbers (four or five) in the midst of a mass of spleen or marrow cells, as if the influence of the latter had brought about the sporulation of all, regardless of immaturity.

XII. Significance of the evolution of the nucleus.

Those who have regarded the nucleus as having a more or less constant structure, have deemed it sufficient to describe, in a comprehensive way, all the appearances which the nucleus of the sexual and asexual generations of a species may assume. Thus, Danilewsky (1885) describes the structure of the nucleus of *H. stepanovi* in the fresh condition as homogeneous, clear and with a nucleolus. Labbé (1894) says the nucleus of *H. stepanovi* is equivalent to that of *Danilewskya lacazei*, which he describes as large, vesicular, and as having, besides a network of chromatin, a membrane, a nu-

cleolus and also a large round grayish body. In *D. monilis* he found the nucleus variable in structure. BÖRNER (1901) describes the gametocyte nucleus of *H. stepanovi* as an open network of linin, with nodal chromatin bodies, twenty or more in number, having a nuclear membrane and karyolymph. In the other species described by him, there are slight variations from this type. He states that the linin fibres may be absent' and that the condition in the nucleus is very variable. The irregular form sometimes shown by the nucleus he considered due to degeneration. SCHAUDINN (1902), on the other hand, gives a careful account of the structural changes in the nucleus of *Plasmodium vivax* in each of the three stages of its life history. It is highly probable that the sequence in the changes of the nucleus is a matter of too great importance to be passed over with the scanty attention that it has received from most students who have sought to unravel the life-histories of blood parasites.

In order to discuss the evidence of the nuclear cycle as described in this paper, the principal facts are here reassembled. We have reason to believe that in *H. stepanovi* there are four complete cycles of nuclear changes, one for each and every time the nucleus is reconstructed after division or conjugation, namely, (1) after conjugation, (2) after cleavage in all four kinds of cysts; (3) during the gametic development; and (4) during the growth of the schizonts. Whether these four cycles are exactly equivalent, or only close parallels, I am not able to say; but it is certain that the order of the stages in a part or all of the four cycles is from the karyosome condition to that of isolated chromosomes of an approximately definite number, which finally undergo a process of binary fission. Possibly the karyosome is a complex structure in which chromatin bodies are concealed in an unstainable condition or out of which they come, as in some *Coccidia* (See p. 356). It is the karyosome that invariably gives rise to the network by the gradual appearance of pale spaces or vacuoles. The network nodes are the points of origin of the new chromatin bodies. The network gradually disappears and the chromatin bodies usually enlarge and then divide. The daughter chromatin bodies melt away before or during cell division. The result is a homogeneous, pale staining mass, which after division into two daughter nuclei becomes a dense karyosome-like body. Frequently the chromatin masses persist in small numbers during the process of division and give rise to a condition that simulates the growth of new chromatin bodies.

The stages of this process as outlined above bear a close analogy to the five types of *protozoan nuclei*, based on chromatin disposition, given by Calkins (1901, p. 253). Calkins recognizes first, a solid sphere, or karyosome, without linin reticulum or membrane; secondly, nuclei with one karyosome surrounded with karyolymph and a membrane; thirdly, nuclei having several karyosomes (2—14), with karyolymph and membrane, and with or without nuclear reticulum; fourthly, nuclei having a large number of chromatin masses with or without a linin reticulum; fifthly, nuclei composed of chromatin granules, either aggregated or distributed, but unconfined by a nuclear membrane. It will be noted that the nucleus of *H. stepanovi* passes through stages corresponding to each of Calkin's five types of nuclei. A closer parallel to these stages occurs in *Plasmodium vivax* (Schaudinn 1902), where the karyosome of the macrogametocyte develops spaces which are the first step in the formation of a coarse network. The latter breaks up into chromatin bodies, which come to rest at the nodes of a fine network. A similar process occurs in the other generations.

According to Farmer (1903, p. 71) in certain *Foraminifera* (*Polystomella crispa*) the nucleus passes through a homogenous stage (Karyosome?), in which the chromatin bodies appear gradually; this is followed by a network stage with chromatin bodies at the network nodes. Similarly in the microgametocyte of *C. schubergi* Schaudinn the chromatin bodies arise from a karyosome and come to lie on a network (Minchin 1903). In the case of the macrogametocyte and zygote full details are not given, but the former begins with a karyosome. The analogy of the nuclear changes in *H. stepanovi* with those of *Klossia eberthi* (Siedlecki, Calkins 1901) and *Caryotropha mesnili* (Siedlecki 1905) is not as close as in the cases just mentioned, nevertheless there are some points of interest in the comparison. In *Klossia* the karyosome gives rise by a process of budding to a number of chromatin bodies, which come to be involved in a network. Perhaps budding is equivalent to the formation of a network around the outside of the karyosome. There is in *Caryotropha mesnili* a large dense karyosome, which forms a network directly and by a series of expansions the chromatin material is given off. It comes to lie at the nodes of the network. There are cases, however, in which it is difficult to discover any analogy with the processes in *H. stepanovi*, as outlined above. The karyosome of *Adelea zonata* (Moroff 1906), for example, is derived, according to Moroff, from sources outside the nucleus. There exists, however, a dense homogeneous

condition of the nucleus in the early zygote, and in later stages a network with the chromatin bodies at the nodes, so that there may be room for a comparison when more is known of the nuclear changes in *Adelea*.

XIII. Literature.

The increase in the knowledge of the *Haemosporidia* of turtles has been due, to some extent, to the close analogy between these parasites and other nearly related *Sporozoa*. When in 1884 DANILEWSKY (1885) discovered *H. stepanovi* in the blood of *Cistudo europea* [= *Emys lutaria* MARS.], the better known *Lankesterella* of frog's blood, no doubt, aided him in his studies of the new parasite. In a similar way, much that has been discovered in regard to other *Haemosporidia* since the pioneer work of DANILEWSKY on the blood parasites of turtles has been helpful in the study of *Haemogregarina stepanovi*.

Many of the earlier observations of the time were made on the laboratory animal of the times — the frog. At the time CHAUSSAT (1850) discovered "*Anguilla minima*" in frog's blood, he described in a general way the form and habits of a blood parasite, including the gelatinous envelope and the strand of gelatinous material that trails behind the parasite during its locomotion. LIEBERKÜHN (1854) observed cysts in the epithelium of the frog's gut and in the frog's ovaries that may belong in the life-cycle of a blood parasite. LANKESTER (1871), too, has alluded to what was probably a haematozoon of the frog, and BÜTSCHLI (1876, p. 261; Taf. VI, Fig. 2, 3) has figured from the frog's blood what are obviously *Haemosporidia*. GAULE (1880, 1881) regarded his "Würmchen" of the blood corpuscles of frogs as death products rather than independent organisms.[1])

However, he figured stages in their growth, and likewise found them in the spleen and bone marrow, where we now look for stages of reproduction.

It remained for LANKESTER (1882) to prove that these bodies were living organisms. He assigned them to a place with the

[1]) The word "Würmchen", it is true, implies an organism, not a "death product". But GAULE's discussion clearly shows that he did not regard them as independent organisms.

Gregarinidae under *Sporozoa.* In the same year Wallerstein (1882) confirmed Lankester, and in addition showed that the organisms were intracellular parasites. Mitrophanow (1883) observed similar parasites in fishes.

Danilewsky (1885), besides discovering blood parasites in turtles (*Emys lutaria*) and adding materially to our knowledge of *Lankestrella*, showed that blood parasites in general are true *Sporozoa.* Confining our attention now to his observations on *Haemogregarina stepanovi*, it may be said that he established the following points: He distinguished between (1) a young slender form, (2) an adult having the body folded on itself, now recognized as a macro- or microgametocyte, and (3) a large unfolded adult, now identified with the schizont. He called attention to the progressive displacement of the nucleus of the blood corpuscle and to the distortion of the corpuscle itself. The adult consisted, according to his observations, of light grayish, nearly homogeneous cytoplasm, enveloped in a very thin cuticula and containing near its middle a single oval homogeneous nucleus with a single dark nucleolus. Danilewsky likewise noticed in the cytoplasm the occasional presence of small vacuoles, and of stainable granules (chromatoid bodies?), some of the latter being as large as the nucleolus. He also called attention to the fact that locomotion could be effected by the escaped parasite in three ways; (1) by advance without change of external form, (2) by a screw-like motion, and (3) by a series of peristaltic constrictions.

In a later paper Danilewsky (1887) published the results of his studies on the parasites of bone marrow, and made some valuable additions to his earlier observations. He noticed the dense anterior end of the adult folded type, the disappearance of the chromatoid granules in the adult stages, sporulating stages having 8, 12 and 16 young, and the manner of formation of the loop or fold of the gametocytes. He maintained that the chromatoid granules were composed of nuclein.

In a general treatise on blood parasites Pfeiffer (1890) figured several varieties of blood parasites, among others those of turtles and lizards. In cysts of *Haemogregarina stepanovi* he found either eight, sixteen, or twenty-four sickle-shaped germs.

The following year Celli and Sanfelici (1891) described *H. stepanovi* from *Testudo europea*, but without adding anything of importance to our knowledge of these parasites.

At about the same time Labbé (1891) issued a preliminary report on his researches upon blood parasites of frogs. His results

will be discussed along with those of his larger paper published three years later.

Between these dates SACHAROFF (1893) investigated the relation of blood parasites to leucocytes. He considered the presence of the parasite in the leucocyte as the result of phagocytosis, the parasite being able to live in its new surroundings, but undergoing some modifications of structure. He maintained that in the blood parasites of the crow the nucleus of the leucocyte is attacked in order to facilitate the existence of the parasite. He also described in the case of *Halteridium* two types, which we now know must have been macro- and microgametes.

The most extensive contribution to our knowledge of *Haemosporidia* up to the present time is that of LABBÉ (1894). The blood parasites of frogs, lizards, turtles and several warm blooded animals were studied from many points of view, but it was especially to a knowledge of the life history of these parasites that this work contributed. LABBÉ showed that the parasites of the blood of frogs, lizards and turtles are of two sorts, corresponding to what we now call schizonts and gametes. He further recognized that the gametes, which he observed in conjugation, were of two sorts. He traced the development of zygotes into the cysts resembling those observed by DANILEWSKY and PFEIFFER. LABBÉ held that all three kinds of young individuals, the schizont and the two kinds of gametes, were produced in a single type of cyst. According to his classification the genus *Danilewskya* includes one species in the lizard, another in the turtle, and a third in the frog. But, including all three species in the genus, for which there are very meagre grounds, his observations on the whole genus are still so limited that he has described no more than five distinct stages, probably only three. He distinguishes in *D. lacazei*, from the blood of the lizard, a young and an adult, also an encysted stage with 15 to 20 "macrosporozoits". LABBÉ supposed that the small *H. stepanovi* parasites from turtle's blood gave rise to "microsporozoits", but he was unable to find them. In his study of this parasite, he apparently gave chief attention to the structure. The most significant of his observations on these forms are therefore entitled to the consideration I have given them here.

In the year 1895 BILLET stated that he had found parasites in the blood of land serpents and water turtles of Haut-Tonkin. Six years later (1901) he described the turtle parasite as a different species from that commonly known in European turtles.

The work of Grassi and Feletti (1891), Mac Callum (1898[a], 1898[b]), Opie (1898), Daniels (1899), and Grassi (1901), dealing with the blood parasites in birds and in man, and their transmission by mosquitoes, was stimulating to the study of blood parasites in general.

Langman (1899) found *Haemosporidia* in eleven of the eighteen species of snakes which he studied, in eight species of water turtles, in the alligator, in the Gila monster in *Amblystoma punctatum*, in *Necturus*, in four species of *Rana*, in *Hyla versicolor* and in *Bufo lentiginosus*. He made no contribution to our knowledge of the life history or cytological structure of these parasites. He believed that the *Haemosporidia* of reptiles survive their host and that their development is very slow, there being no change when watched for weeks or even months. They seem to have no bad effects on snakes; his reason for this conclusion being, in part, that old snakes have fewer parasites than the young.

In a paper on the classification of blood parasites, Laveran (1901) placed this group among the *Sporozoa* as coequal with the *Coccidia*, and gave to them the name *Haemocytozoa* (Danilewsky). He proposed for them three subdivisions, the first embracing forms like the malaria parasite and *Proteosoma*, the second, forms like *Piroplasma*, and the third, those found in cold blooded animals. The last he called *Haemogregarina*. At this time Laveran denied that microgametes had been demonstrated in any blood protozoan.

A blood parasite in the gecko (*Platydactylus mauretanicus*) was described by Billet (1900) as having a short limb; it possessed micro- and macrogamete stages.

In a paper by Börner (1901) on the blood parasites of turtles, snakes, and crocodiles, the structure of the cytoplasm and of the nucleus of several stages of *H. stepanovi* are described in considerable detail. Börner, not having at command parasitised turtles, endeavored to innoculate *Rana* and *Lacerta* by subcutaneous and intraperitoneal injections of the infected blood of a turtle, but the results were negative. He ventures the opinion that it will ultimately be discovered that natural infection takes place by means of an intermediate (arthropod) host.

Lutz (1901) studied the blood of a number of South American snakes and found a blood parasite which he regarded as the same species (*Drepanidium serpentium*) in all the hosts. He distinguished between the parasites of the circulating blood and those found in various organs; the former he calls haemozoits (of which there are

two forms: the microzoits and the macrozoits), the latter, before they have produced any germs, he calls sponts. The free sporonts are converted into cysts, the contents of which are granular and give rise to spheroidal sporoblasts, which become metamorphosed into sporozoits, but leave a residual body in the cyst. These cysts are either "micro- or macrosporozoit" cysts and contain respectively microhaemozoits and macrohaemozoits which are not distinguishable from those of the circulating blood. Since LUTZ studied chiefly fresh blood he has not contributed greatly to our knowledge of the finer structure of these *Haematozoa*, though he has pointed out the differences between the micro- and macrozoits, and especially the presence of granules (of paraglycogen) in the macrozoits, which are wanting in the microzoits. While he gives a fairly complete account of each stage and its relation to the blood cells, he has not clearly stated the grounds on which to distinguish *D. serpentium* from other *Haematozoa*. Besides the ordinary abundant form of macrozoit, LUTZ finds another form which is much thicker. While he admits that the size suggests that this form of macrozoit may have been produced by the conjugation of two gametes he was not able to find the slightest additional evidence of such conjugation, and therefore infers that the sexual act occurs under other conditions than those observed by him. He believes that macrozoits after encystment may produce new macrozoits without any sexual process whatever, and can also produce microzoits in some way. But why they produce now one and now the other is still a puzzle.

SIMOND (1901) studied the *Haematozoa* of the turtles and crocodiles of India and China, including the species *Trionyx indicus*, *Emys tectum*, *Cryptosus granosus* and the crocodile, *Gavialis gangeticus*. Until it can be proved that BÖRNER's (1901) crocodile Haematozoön is a different species from that described by SIMOND (1901), the name (*H. hankini*) given by the latter should have precedence over *H. crocodilinorum*, the name given by BÖRNER, since the name *H. hankini* was published February 22, 1901, and the name *H. crocodilinorum* in March 1901.

SIMOND avoids the difficulty of bringing the various types of parasites which he found into a connected series by arranging them in five groups, as follows; Group 1, containing young stages; Group 2, containing pigmented and folded forms; Group 3, containing forms without a folded tail and with or without pigment granules; Group 4, containing forms which appear in general similar to, but vary in details from, those of Group 2; Group 5, containing stages under-

going multiplication. Simond's figures are numerous and represent a great variety of types, but the details of structure are not, as a rule, full enough to allow one to identify all his types with certainty. We may attribute to Simond the discovery of the following stages of *H. stepanovi* and *H. mesnili*: (1) a free type with a rostrum, which suggests the method of penetrating corpuscles; (2) stages which are probably praesporulating cysts of a microgametocyte; (3) a large ovate uni- or binucleated form having a median groove; this form Simond regards as derived from the microgametocyte which has the posterior portion folded on to the anterior portion, the two parts having their adjacent surfaces fused; (4) forms which are clearly cleavage stages of the microgametocyte. Simond placed in different groups two adult microgamete stages of *H. hankini* which had in the one case a dense nucleus, in the other isolated chromosomes, and makes the observation that for one of these adults he could find no young.

In *Trionyx indicus* he (Simond 1901[a]) found a Haematozoön which he called *H. metschnikovi*. It is without doubt a distinct species, being much smaller than *H. stepanovi*, and having an amoeboid phase. He suggests that it may be the point of departure in the phylogenetic series for avian haemogregarines. In this species he distinguishes three types, one being a kind of transition between the other two.

Laveran et Mesnil (1902) found in *Damonia revesii* Gray, a turtle of Ceylon, two species of *Haematozoa*, which they considered distinct from each other and different from the species *H. stepanovi* common in the turtles of Europe, especially in *Emys lutaria*. The two new species were named *H. stepanoviana* and *H. rara*. At another place (p. 345) in this paper the validity of these species is discussed in detail.

In a very complete paper by Hintze (1902) on *Lankestrella minima* we have a contribution to the life history of the *Haematozoa* of cold blooded animals. Hintze found three kinds of individuals: schizonts, macrogametes and microgametes. The half-grown schizont is 8 μ long. It is round at the posterior end and tapers gradually toward the anterior end. It has ectoplasm and endoplasm, with myocyte fibrils spirally arranged, two vacuoles, a plastid and both chromatoid and metachromatoid granules. The nucleus has from five to fifteen chromatic granules, which he maintains arise by division from one original granule. There is neither karyosome nor nuclear membrane. In the microgametocyte the nucleus may have

as many as twenty chromatin granules. The nucleus multiplies by repeated divisions and the parts move to the periphery. Each becomes the nucleus of a microgamete; the microgametes detach themselves from the cyst one by one. The macrogametocyst is much larger and has a variable number of chromatin granules. The nucleus undergoes direct division during the maturation process, one of the daughter nuclei being detached from the cell. The union of the nuclei in fertilization was not observed. Preparatory to encystment, the mature schizont bends into the shape of a horseshoe, then the two ends come into contact and fuse, as SIMOND describes for the microgametocyte of *H. stepanovi.* The nucleus divides into as many parts as there are granules, each part moving to the periphery and becoming the nucleus of a merozoit. The amphiont nucleus divides and the two units move to the poles. Each daughter nucleus then divides by multiple fission and eight to ten nuclei result. HINTZE supposes that the multinucleated body thus formed, enters the intestinal epithelium and gives rise to sporozoits, which are set free in the intestinal tract to pass out with the faeces and in some way infect another frog. He infected frogs with *Lankestrella* by feeding the lining of the intestine and the gut contents of an infected frog to a frog previously free from the parasite. But not satisfied with the assumption that one frog must eat the flesh or excreta of another frog in order to become infected, he tried, without success, to infect tadpoles, thinking that in these he would have a host accustomed to forage in the sediment at the bottom of the water. HINTZE's observations are very useful for their suggestion of similar conditions in closely related parasites.

In an effort to discover the history of *H. stepanovi* in its transit from one turtle to another, SIEGEL (1903) studied the contents of the stomach diverticula of leeches. In *Placobdella catenigera* he observed that the „worm-like stages“ (microgametocyte and macrogametocyte) undergo profound changes. Some gametocytes produce micro- others macrogametes. In the blood stream of the leech around the intestinal diverticula and in the heart, especially in the region of its valves, he encountered them. The macrogametes appear as elongated oökinets with sixteen nuclei. These bodies he traced to the oesophageal glands, where they give rise to thread-like sporozoits. The latter come to lie in the lumen of the gland. These sporozoits can be found in the oesophageal glands of young leeches developed from the egg, before they have taken blood from a host.

These interesting observations led Brumpt (1904) to study the stomach pouches of leeches which had fed on the parasitized blood of batrachians, reptiles, birds, and fishes. In his preliminary paper he does not confirm Siegel in regard to the fate of the micro- and macrogametes. He observed gametes differing from those found by Siegel and, instead of sporozoits, he found numerous leech spermatozoids injected during the fecundation of the leech. In experiments on transmission, mostly with the parasites of fish blood he got negative results. The lining of the leech's stomach he found covered with gregarines having the same general form as trypanosomes. In short, Brumpt has thrown a shadow of doubt on Siegel's interpretations.

In *Emys leprosa*, a turtle of Tunis, Ducloux (1904) describes a haemosporidian under the name of *H. bagensis.* Just how much it differs from *H. stepanovi* can not be made out from the details published; however, some of the observations are new. He implies that the adults have a stage with the body folded approximately in the middle. This stage he considers a gametocyte, since he found four masses of chromatin material so distributed that there are two to each half of the folded body. There results from the fusion of these two portions a large oval cyst. He observed conjugation in the blood of the liver, but the result he was unable to follow.

Laveran (1905), in connection with a description of a new haemosporidian from the frog, describes one of *Testudo pardalis*, which he calls *Haemamoeba* nouvelle. The description is very brief, but is sufficient to show a marked difference between this parasite and *H. stepanovi.*

A very interesting field of speculation was opened by Laveran e Negré (1905) through the discovery of young cysts and sporozoits in the abdomen of the tick, *Hyalomma aegyptium*, from *Testudo mauritanica.* They believe that this tick is the intermediate host of haemosporidia of fish and turtles.

XIV. Summary.

My conclusions may be briefly stated as follows:

1. In the turtle haematozoön *H. stepanovi* there is no single structural type for either of the four lines of development (sexual, microgametocyte, macrogametocyte, or schizont); on the contrary,

the structure both of cytoplasm and nucleus in any given stage of development varies considerably.

2. The criteria of relationship are based on consecutive changes of nuclear structure together with the more obvious changes in external form.

3. The life history in the cold-blooded host includes an asexual and a sexual generation, the latter composed of two easily distinguishable lines of development, a macro- and a microgamete series.

4. There are two distinct types of schizonts, schizont cysts, microgametocytes and macrogametocytes, one type for the beginning of the asexual period and one for the latter part of this period.

5. The relationship of these two kinds of individuals, together with their distribution in regard to the sexual stages, fully justifies the conclusion that a period of sexual reproduction (schizogony) is regularly followed by the conjugation of sexually differentiated individuals (micro- and macrogametes), in other words, that there is an alternation of generations.

6. The nucleus passes through a cycle of definite structural stages between successive cleavages, including (1) an initial karyosome stage, (2) a coarse network stage, (3) an open network stage with nuclear membrane, (4) a chromosome stage with (usually) sixteen chromatin bodies, but without a membrane, and (5) a stage of reorganization of the achromatin, during which the chromatin bodies fade away and at times a spindle-like structure is discernable.

7. The highly refractive deeply staining bodies of the cytoplasm (chromatoid bodies) are residual plastic substances which are eliminated by these parasites before reproduction and tend to accumulate in certain organs.

8. The cytoplasm is essentially the same in structure throughout all types, being a heavy network (or alveolar structure) of granular protoplasm in young forms, and rather abruptly changing in stages of reproduction to a network of finer fibres with very large spaces.

9. In reproductive stages growth continues up to the time the young are formed.

10. There is conjugation of gametes resulting in a rejuvenated reproductive body or zygote.

11. As yet no intermediate host is known with certainty, and the completion of the life cycle, as far as at present known, does not require such a second host, though the existence of one is not by any means denied.

XV. Bibliography.

Bâznosano, P. A. (1901): Haematozoa of the Frog and Tortoise. Bull. Soc. Sci. Bucarest Bd. X (1901) p. 329—335 12 fig. Abstract in Jour. Roy. Micr. Soc. London 1901 Pt. 6 p. 654—655.

Billet, A. (1895): Sur les hématozoaires des ophidiens du Haut Tonkin. C. R. Soc. Biol. Paris Tome 47 (sér. 10 Tome 2) fasc. 2 p. 29—31, 6 fig.

— (1900): Sur un hématozoaire endoglobulaire des Platydactylus. C. R. Soc. Biol. Paris Tome 52 p. 547—549.

— (1901): A propos de l'hématozoaire endoglobulaire pigmenté des Trionyx, Hæmamœba Metschnikovi (Simond). C. R. Soc. Biol. Paris Tome 53 p. 257—259, 10 fig.

Börner, C. (1901): Untersuchungen über Hämosporidien. I. Ein Beitrag zur Kenntnis des Genus Haemogregarina Danilewsky. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 69 Heft 3 p. 398—416 Taf. 28.

Brumpt, E. (1904): Contribution à l'étude de l'évolution des Hémogrégarines et des Trypanosomes. C. R. Soc. Biol. Paris Tome 57 p. 165—167.

Bütschli, O. (1876): Studien über die ersten Entwicklungsvorgänge der Eizelle, die Zellteilung und die Conjugation der Infusorien. Abh. Senckenberg. naturf. Ges. Bd. 10 p. 213—464 15 Taf.

Calkins, G. N. (1901): The Protozoa. Columbia Univ. Biol. Series Vol. VI, xvi + 347 p. 153 Fig. The Macmillan Co., New York.

— (1906): The Protozoön Life Cycle. Biol. Bull. Vol. XI No. 5 p. 229—244.

Celli, A. u. Sanfelice, F. (1891): Über die Parasiten des rothen Blutkörperchens im Menschen und in Thieren. Fortschr. d. Med. No. 12—15 p. 499—511, 541—552, 581—586 Taf. 5—8.

Chaussat (1850): Des Hématozoaires. (Thèse pour le doctorat en médecine, Paris.)

Craig, C. F. (1907): A Study of Latent and Recurrent Malarial Infection and the Significance of Intracorpuscular Conjugation in Malarial Plasmodia. Jour. Infectious Diseases Vol. 4 No. 1 p. 108—140 pl. 2.

Crawley, H. (1902): The Progressive Movement of Gregarines. Proceed. Acad. Nat. Sci. Philad. Vol. 54 p. 4—20 pl. 1, 2.

Daniels, C. W. (1899): On Transmission of Proteosoma to Birds by the Mosquito. A Report to the Malaria Committee of the Royal Society. Proceed. Roy. Soc. London Vol. 64 No. 411 p. 443—454.

Danilewsky, B. (1885): Die Hämatozoen der Kaltblüter. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 24 Heft 4 p. 588—598 Taf. 27 A.

— (1887): Recherches sur la parasitologie du sang. IV. Les Hématozoaires des Tortues. Arch. Slav. Biol. Tome 3 p. 33—49, 157—176, 370—417 2 pl.

— (1889): La parasitologie comparée du sang. Livr. 1. Recherches sur les hématozoaires des tortues. St. Pétersbourg.

Ducloux, M. L. (1904): Sur une hémogrégarine de Emys leprosa. C. R. Soc. Biol. Paris Tome 56 (Ann. 1904 Tome 1) No. 12 p. 564—565.

Farmer, J. B. (1903): Protozoa. Section H. — The structure of Animal and Vegetable Cells. in: A Treatise on Zoölogy edited by E. Ray Lankester Pt. I fasc. 2 p. 1—46 Textfigs. 1—20. Adam and Charles Black. London.

Gaule, J. (1880): Über Würmchen, welche aus den Froschblutkörperchen auswandern. Arch. f. Anat. u. Physiol., Physiol. Abt. p. 57—64.

Gaule, J. (1881): Die Beziehungen der Cytozoen (Würmchen) zu den Zellkernen. Arch. f. Anat. u. Physiol., Physiol. Abt. p. 297—316 Taf. 5.

Goldschmidt, R. u. Popoff, M. (1907): Die Karyokinese der Protozoen und der Chromidialapparat der Protozoen- und Metazoenzelle. Arch. f. Protist. Bd. 8 p. 321—343, 6 Textfig.

Grassi, B. (1901): Die Malaria. Studien eines Zoologen. Zweite vermehrte Auflage. Jena, G. Fischer. VIII + 250 p. 8 Taf.

Grassi, B. u. Feletti, R. (1891): Malariaparasiten in den Vögeln. Centralbl. f. Bakt. u. Parasit. Bd. 9 Abt. 12—14 p. 403—409, 429—433, 461—467.

Hintze, R. (1902): Lebensweise und Entwicklung von Lankestrella minima (Chaussat). Zool. Jahrb., Abt. f. Anat. Bd. 15 Heft 4 p. 693—730 Taf. 36.

Labbé, A. (1891): Contribution à l'étude des hématozoaires. Sur les hématozoaires de la Grenouille. C. R. Acad. Sci. Paris Tome 113 (12. Oct. 1891) p. 479 —481.

— (1894): Recherches zoologiques et biologiques sur les parasites endoglobulaires du sang des vertebrés. Arch. Zool. Exp. sér. 3 Tome 2 p. 55—258 pl. 1—10.

Lang, A. (1901): Lehrbuch der vergleichenden Anatomie der wirbellosen Tiere. Aufl. 2, Lief. 2, Protozoa. VI + 311 p. 259 Fig. G. Fischer, Jena.

Langmann, G. (1899): On Haemosporidia in American Reptiles and Batrachians. New York Med. Jour. Vol. 69 Jan. 1899 p. 1—6, 1 pl.

Lankester, E. R. (1871): On Undulina, the Type of a New Group of Infusoria. Quart. Jour. Micr. Sci. N. S. Vol. 11 p. 387—389, 4 textfig.

— (1882): On Drepanidium ranarum, the Cell-parasite of the Frog's Blood and Spleen (Gaule's Würmchen). Quart. Jour. Micr. Sci. N. S. Vol. 22 p. 53 —65, 5 textfig.

— (1900): Notes on the morphological significance of the Various Phases of Hæmamœbidae. Quart. Journ. Micr. Sci. N. S. Vol. 43 p. 581—588, 13 textfig.

Laveran, A. (1898): Contribution à l'étude de Hemogregarina Stepanovi (Danilewsky). C. R. Soc. Biol. Paris Tome 50 (sér. 10, Tome 5) p. 885—889.

— (1899): Les Hématozoaires endoglobulaires (Hæmocytozoa). Cinquantenaire Soc. Biol. Paris Vol. Jubilaire p. 124—133.

— (1901): Essai de classification des hématozoaires endoglobulaires, ou Hæmocytozoa. C. R. Soc. Biol. Paris Tome 53 p. 798—801.

— (1902): Sur quelques hémogrégarines des Ophidiens. C. R. Acad. Sci. Paris Tome 135 p. 1036—1040, 13 fig.

— (1905): Contributions à l'étude des grandes hémogrégarines des Grenouilles. C. R. Soc. Biol. Paris Tome 59 (Ann. 1905 Tome 2) fasc. 26 p. 172—175, 9 fig.

Laveran, A. et Mesnil, F. (1902): Sur quelques protozoaires parasites d'une Tortue d'Aise (Damonia Reevesii). C. R. Acad. Sci. Paris Tome 135 No. 16 p. 609—614, 14 fig.

Laveran, A. et Nègre (1905): Sur un protozoaire parasite de Hyalomma ægyptium. C. R. Soc. Biol. Paris Tome 58 p. 964—966, 6 fig.

Léger, L. (1903): La reproduction sexuée chez les Stylorhynchus. Arch. f. Protist. Bd. 3 p. 303—357 pl. 13, 14.

Lieberkühn, N. (1854): Über die Psorospermien. Arch. f. Anat., Physiol. u. wiss. Med. Jahrg. 1854 p. 1—24 Taf. 1, 2.

Lutz, A. (1901): Über die Drepanidien der Schlangen. Ein Beitrag zur Kenntnis der Haemosporidien. Centralbl. f. Bakt. u. Parasit. Abt. I Bd. 29 p. 390—398 1 Taf.

MacCallum, W. G. (1898[a]): On the Haematozoan Infections of Birds. Jour. Exp. Med. Vol. 3 p. 117—136 pl. 12.

— (1898[b]): Notes on the Pathological Changes in the Organs of Birds Infected with Haemocytozoa. Jour. Exp. Med. Vol. 3 p. 103—116 pl. 10, 11.

Marceau, F. (1900): Note sur le Caryolysus lacertarum, parasite endoglobulaire du sang des lézards. Arch. Parasit. Paris Tome 4 p. 135—142, 45 fig. *See also* C. R. 13, Congr. Internat. Med. Paris, Histol. et Embryol. p. 38—40.

Minchin, E. A. (1903): Protozoa. Section K. — The Sporozoa. in: A Treatise on Zoology edited by E. Ray Lankester Pt. 1 fasc. 2 p. 150—360, 127 textfig. Adam and Charles Black, London.

Mitrophanow, P. (1883): Beiträge zur Kenntniss der Hämatozoen. Biol. Centralbl. Bd. 3 p. 35—44.

Moroff, T. (1906): Untersuchungen über Coccidien. I. Adelea zonula nov. sp. Arch. f. Protist. Bd. 8 p. 17—51 Taf. 2, 24 Textfig.

Opie, E. L. (1898): On the Haemocytozoa of Birds. Jour. Exp. Med. Vol. 3 p. 79—101 pl. 9.

Pfeiffer, L. (1890): Beiträge zur Kenntniss der pathogenen Gregarinen. IV. Gregarinenformen innerhalb der Blutzellen bei Schildkröten, Eidechsen, Vögeln und von Malariakranken. Zeitschr. f. Hyg. Bd. 8 p. 309—330.

Robertson, M. (1906): Notes on certain Blood-Inhabiting Protozoa. Proc. Roy. Physic. Soc. Edinburgh Vol. 16 No. 6 p. 237—247 pl. 8. 9.

Ross, R. (1897): On some Peculiar Cells Found in two Mosquitoes Fed on Malarial Blood. Brit. med. Jour. Vol. 2 (for 1897) Dec. 18 p. 1786—1788.

— (1898[a]): Report on the Cultivation of Proteosoma labbé in Grey Mosquitoes. Office of the Supt. of Gov. Printing., Calcutta, India. May 1898 9 pl.

— (1898[b]): Pigmented Cells in Mosquitos. Brit. Med. Jour. Vol. 1 (for 1898) Febr. 26 1898 p. 550—551.

— (1898[c]): Preliminary Report on the Infection of Birds with Proteosoma by the Bites of Mosquitoes. G. C. Press, Simla 4° 3 p. Reprint dated Oct. 11 1898, Nowgong, Assam.

Ross, R. and Fielding-Ould, R. (1900): Diagrams illustrating the Life-history of the Parasites of Malaria. Quart. Jour. Micr. Sci. Vol. 43 p. 571—579 pl. 30, 31.

Sacharoff, N. (1893): Recherches sur les hématozoaires des oiseaux. Ann. Inst. Pasteur Tome 7 No. 12 p. 801—811 pl. 15.

Schaudinn, F. (1899): Der Generationswechsel der Coccidien und Hämosporidien. Eine Zusammenfassung der neueren Forschungsresultate. Zool. Centralbl. Jahrg. 6 p. 765—783.

— (1900): Untersuchungen über den Generationswechsel bei Coccidien. Zool. Jahrb., Abt. f. Anat. u. Ont. Bd. 13 p. 197—292 Taf. 13—16.

— (1902[a]): Studien über krankheitserregende Protozoen. I. Cyclospora caryolytica Schaud., der Erreger der perniciösen Enteritis des Maulwurfs. Arb. a. d. kais. Gesundheitsamte Berlin Bd. 18 Heft 3 p. 378—416 Taf. 13, 14.

— (1902[b]): Studien über krankheitserregende Protozoen. II. Plasmodium vivax (Grassi u. Feletti), der Erreger des Tertianfiebers beim Menschen. Arb. a. d. kais. Gesundheitsamte Berlin Bd. 19 Heft 2 p. 169—250 Taf. 4—6.

SCHAUDINN, F. u. SIEDLECKI, M. (1897): Beiträge zur Kenntniss der Coccidien. Verh. Deutsch. Zool. Ges. 1897 p. 192—203.

SCHEWIAKOFF, W. (1894): Über die Ursache der fortschreitenden Bewegung der Gregarinen. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 58 p. 340—354 Taf. 20, 21.

SIEDLECKI, M. (1905): Über die Bedeutung des Karyosoms. Bull. Internat. Acad. Sci. Cracovie, Cl. sci. math. et nat. Ann. 1905 No. 8 (Oct.) p. 559—581 pl. 16.

SIEGEL, J. (1903): Die geschlechtliche Entwicklung von Haemogregarina stepanovi im Rüsselegel Placobdella catenigera. Arch. Protist. Bd. 2 Heft 3 p. 339—342, 7 Textfig.

SIMOND, P. L. (1901a): Sur un hématozoaire endoglobulaire pigmenté des tortues. C. R. Soc. Biol. Paris Tome 53 p. 150—152.

— (1901 b): Contribution à l'étude des hématozoaires endoglobulaires des reptiles. Ann. Inst. Pasteur Tome 15 No. 5 p. 319—351 pl. 7, 8.

WALLERSTEIN, H. (1882): Über Drepanidium ranarum R. LANKESTER. Inaug.-Dissert. Bonn. 39 p.

Explanation of Plates.

All drawings were made with the aid of a camera lucida. A BAUSCH and LOMB $^1/_{12}$ inch oil immersion and No. 1 ocular were used for about half of them a REICHERT $^1/_{12}$ inch oil immersion and No. 4 ocular for all others except one (Fig. 108), which was made with a ZEISS $^1/_{18}$ inch objective. In passing from one outfit to another the tube was so adjusted that the drawings are all made to the same scale. The magnification is about 1300 diameters with the exception of Figure 108, which is magnified about 2000 diameters.

Synopsis of Figures.

Plate XVI.

Figs. 1—9. Microgametes and macrogametes in conjugation.
Figs. 10—16. Zygotes.
Figs. 17—23. Zygotes with the nucleus dividing.
Figs. 24—31. Zygotes dividing (formation of sporozoits).
Figs. 32—33. Merozoits destined to become gametocytes.
Figs. 34—36. Early stages of gametocytes.
Figs. 37—43. Microgametocytes.
Figs. 44—50. Macrogametocytes.
Figs. 51—58. Genesis of gametes (sporulation of gametocytes).

Plate XVII.

Figs. 59—65. Gametes and their genesis.
Figs. 66—71. Schizont cysts (the cleavage is similar to that in Figs. 24—31).
Figs. 72—73. Secondary merozoits.
Fig. 74. Zygocyst with mature sporozoits.
Figs. 75—76. Sporozoits.
Fig. 77. Secondary merozoit becoming a gametocyte.

Figs. 78—85. Secondary gametocytes.
Figs. 86—88. Secondary schizont before (86), during (87), and after (88) division of the nucleus.
Figs. 89—93. Secondary schizont cysts.
Figs. 94—97. Primary merozoits (chromatin bodies dividing).
Figs. 98—101. Primary schizonts (sporozoits or merozoits).
Figs. 102—104. Secondary schizonts.
Fig. 105. Zygote.
Figs. 106—111. Living parasites.
Figs. 112—116. Special cases.

Description of Figures.

Plate XVI.

Figs. 1—4, 6. Gametes before conjugation:

Fig. 1. Blood corpuscle from bone marrow containing, at the right, a microgamete, 11,4 $\mu \times$ 1,4 μ; at the left, a macrogamete, 11,4 $\mu \times$ 3,5 μ.

Fig. 2. Microgamete (right) and macrogamete (left) in corpuscle from marrow.

Fig. 3. At left microgamete, at right macrogamete (from liver).

Fig. 4. Two gametes conjugating (both have grown to considerable size); together they measure 5,7 $\mu \times$ 8,6 μ (marrow).

Fig. 6. Apparent conjugation between a merozoit (thick individual) and microgamete (slender individual) from marrow.

Figs. 5, 7—9. Conjugating gametes after confluence of cytoplasm, nuclei still separate (all from marrow). In Figure 9 the blood corpuscle is not drawn.

Fig. 10. Zygote (10,4 $\mu \times$ 5,2 μ) to show the supposed condition of the nucleus after fusion of the nuclei of the gametes (marrow).

Fig. 11. Zygote with 16 chromatin bodies (marrow).

Figs. 12, 13, 14 β. Zygotes with chromatin bodies dividing or divided (marrow).

Figs. 14 α, 15, 16. Zygotes with approximately 32 chromatin bodies and increased amount of karyolymph. Figure 15 from marrow; Figure 16 (10 $\mu \times$ 6,7 μ) from spleen.

Figs. 17—20. Zygotes; nucleus with voluminous karyolymph; the chromatin bodies either minute or absent; cytoplasm vacuolated.

Fig. 17. Zygote (12,6 $\mu \times$ 8,2 μ) from marrow.

Fig. 18. Spindle-like nucleus, from marrow (13 $\mu \times$ 8,9 μ).

Fig. 19. Parasite free in the serum; 12,8 $\mu \times$ 8.5 μ (spleen).

Fig. 20. Blood corpuscle not drawn (spleen).

Figs. 21—23. Successive stages in the rotation of the dividing nucleus of a zygote. Figures 21 (11,9 $\mu \times$ 7,4 μ) and 22 (13,4 $\mu \times$ 8,9 μ) from marrow; Figure 23 (15,1 $\mu \times$ 7 μ) from spleen.

Figs. 24, 25. Zygotes each with two nuclei presenting successive stages of nuclear reconstruction.

Fig. 24. Zygote (14,3 $\mu \times$ 9,3 μ). The chromatin bodies have nearly all disappeared (marrow).

Fig. 25. Parasite 12,6 $\mu \times$ 7,4 μ (spleen). The lower nucleus nearly destitute of chromatin bodies; the upper has the form of a coarse network.

Fig. 26. Zygote (14,3 μ × 10 μ) completely divided into two cells. Each nucleus exhibits a fine network with chromatin bodies at the nodes (spleen).

Figs. 27—31. Successive stages of cleavage, or formation of sporoblasts. Figures 27—29 parasites free in the blood serum.

Fig 27. Parasite (14,9 μ × 8,9 μ) from spleen.

Fig. 28. Cytoplasm (15,7 μ × 10 μ) cleft into two parts, each containing two nuclei; in one part the two nuclei have the form of parallel bars, in the other both are reorganized into spheroidal masses containing prominent chromatin bodies (spleen).

Fig. 29. Parasite 15 μ × 10,7 μ; of the six nuclei one is in the loose-network stage (spleen).

Fig. 30. Cytoplasm (16,4 μ × 13 μ) divided into four or more portions; nuclei in process of division into eight new nuclei (marrow).

Fig. 31. Parasite 15 μ × 12,5 μ. There are 16 nuclei and around each a sporozoit is being differentiated out of cytoplasm (marrow).

Origin of gametocytes and development of gametes (Figs. 32—58).

Figs. 32, 33. Merozoits (Sporozoits?). Chromatin bodies reduced in size as compared with very young merozoits and sporozoits (see Plate XVIII Figs. 72, 75); caryolymph dense (heart).

Figs. 34—36. Stages in the conversion of merozoits into gametocytes, to show the origin of the network stage from the karyosome stage of the nucleus.

Fig. 34. Parasite 13,5 μ × 2,8 μ; beginning of tail flexure (blood vessels of the intestine).

Fig. 35. From the blood of the heart.

Fig. 36. Microgametocyte, 11,9 μ × 4 μ (heart).

Figs. 37—43. Microgametocytes. Chromatin bodies at nodes of nonchromatin network and on nuclear membrane. Nonchromatin network becoming finer. Nucleus gradually lengthening and moving backward. Figures 37—41 show a homogeneous region at the anterior end.

Fig. 37. Parasite 11,9 μ × 4,5 μ (heart).

Fig. 38. Fixation with absolute alcohol and ether; stained with toluidin blue; 12,9 μ × 2,8 μ (marrow).

Fig. 39. Parasite 12,8 μ × 4,3 μ; nuclear membrane present (blood vessels of the intestine).

Fig. 40. Fixation with absolute alcohol and ether; toluidin blue; 14,3 μ × 5,7 μ (marrow).

Fig. 41 About maximum size, chromatin granules in three rows (marrow).

Fig. 42. α. Achromatic network almost invisible. Chromatin bodies 16—20; some of them have either divided or are elongated and so turned as to show the enlarged ends only. β. Metamorphosis of nucleus more advanced at its posterior end (marrow).

Fig. 43. Cytoplasm beginning to show large alveoli. Nucleus has membrane, but no achromatic network. Chromatin bodies, ultimately about 32 in number, have divided or are dividing; 14,3 μ × 6,4 μ (marrow).

Figs. 44—50. Macrogametocytes. Coarse network breaks up into chromatin bodies; nucleus, not much elongated, moves backward. Chromatoid granules.

Fig. 44. Nucleus emerging from karyosome stage. Tail flexure broad at angle and the anterior end of the parasite distinctly enlarged. 12 8 μ × 4,9 μ (heart).

Fig. 45. From blood vessels of the intestine.

Fig. 46. Chromatoid granules extruded; 14,1 μ × 4,3 μ (tail).

Fig. 47. Nucleus has membrane, all parts equally advanced; 15 μ × 5,7 μ (heart).

Fig. 48. Chromatin bodies developing on network; vacuole present in cytoplasm; 17,2 μ × 7,1 μ (spleen).

Fig. 49. Nucleus without membrane; chromatin bodies forming from achromatic masses (liver).

Fig. 50. Cytoplasm with numerous vacuoles; nucleus without membrane; chromatin bodies (upwards of 32) dividing or already divided.

Figs. 51—58. Genesis of gametes.

Fig. 51. Microgametocyte. The tail has fused with the body; vacuoles numerous; chromatin bodies forming into two groups (liver).

Fig. 52. Macrogametocyte. Chromatoid granules extruded between tail and body (liver).

Fig. 53. Probably a microgametocyte; division of nucleus complete. Chromatin bodies enlarging preparatory to division (liver).

Fig. 54. Macrogametocyte. Tail persists. Nuclei (five) in network stage indicating maturity; 14,9 μ × 6,7 μ (liver).

Fig. 55. Macrogametocyte. Tail and chromatoid bodies persist. Nuclei have enlarged chromatin bodies; 15,7 μ × 7,1 μ (blood vessels of intestine).

Fig. 56. Microgametocyte with two nuclei, each in process of division; 16,4 μ × 7,1 μ (marrow).

Fig. 57. Macrogametocyte with seven nuclei and with tail fused; 18,6 μ × 8,6 μ (marrow).

Fig. 58. Microgametocyte with seven nuclei and tail fused with the body (marrow).

Plate XVII.

Cysts, schizont, gamete and zygote; growth of secondary merozoit into secondary gametocyte (Figs. 59—85).

Fig. 59. Microgametocyte with five nuclei, in one of which chromatin bodies are being formed from a network of thick strands; 16,3 μ × 7,4 μ (marrow).

Figs. 60—65. Gamete formation and gametes.

Fig. 60. Microgamete cyst (18,6 μ × 5,7 μ) containing seven microgametes, some fully, others incompletely, formed. Nuclei with dense chromatin bodies and almost destitute of a network (marrow).

Fig. 61. Mature microgametes. Some of the nuclei in the network stage, others with well formed chromatin bodies. Cyst wall (not drawn) 17,5 μ × 7,8 μ; microgamete 7 μ × 1,5 μ (blood vessels of the intestine).

Fig. 62. Macrogamete cyst with six macrogametes; Gamete cytoplasm greater in quantity than in microgamete. A portion of the cytoplasm of the gametocyte, not used in the formation of the gametes, remains as a residue; cyst 18,6 μ × 7,1 μ; gamete, 7,1 μ × 2,1 μ (blood vessels of the intestin).

Fig. 63. Macrogamete cyst with four macrogametes. Some nuclei large and with coarse network, others more condensed. Protoplasmic residue small. Cyst 15 μ × 6,4 μ; gamete 6,8 μ × 1,5 μ (blood vessels of the intestine).

Fig. 64. Macrogamete cyst with four macrogametes, one escaping. In some nuclei a network stage, in others the chromatin bodies are well developed. Cyst 14,8 $\mu \times$ 5,2 μ; gamete 10,4 $\mu \times$ 1,8 μ (liver).

Fig. 65. Two macrogametes taken from a group of four. Nuclei in different stages of reconstruction. Compare with Figure 61 as to shape of nucleus and its size relative to that of the gamete.

Figs. 66—71. Schizont cysts.

Fig. 66. Schizont cyst (12,3 $\mu \times$ 5,9 μ) passing from two-to four-cell condition. Nuclei dividing; chromatin in the form of two approximately parallel masses. Plane of cleavage diagonal, as in Figure 26 (liver).

Fig. 67. Four-cell stage, showing manner of cleavage 17,1 $\mu \times$ 6,4 μ (spleen).

Fig. 68. Schizont cyst (14,9 $\mu \times$ 8,2 μ) with five immature merozoits; nuclei in loose network stage; merozoits short and thick (marrow).

Fig. 69. Schizont cyst of late generation (see of VII[2] diagram) with five mature merozoits. Nuclei elongated, chromatin bodies large, at nodes of network. Nuclear membrane. Cyst 15 $\mu \times$ 0,7 μ; merozoits 10,4 $\mu \times$ 2,2 μ (marrow).

Fig. 70. Immature schizont cyst (18 $\mu \times$ 13,4 μ) with ten broad merozoits; nuclei rounded and in various stages of reconstruction; chromatin bodies few and at the nodes of faint loose network (marrow).

Fig. 71. Mature schizont cyst with fifteen slender merozoits. Nuclei large, elongated; chromatin bodies dense, at nodes of loose network; network obscure in the older nuclei (liver).

Figs. 72, 73. Merozoits from such schizont cysts as contain from two to eight, or even sixteen, merozoits.

Fig. 72. Merozoit (secondary) from a four-to eight, instead of a sixteen-cell cyst. When this type of merozoits is abundant, cysts with few merozoits are noticeably numerous and there are practically no cysts having many merozoits (liver).

Fig. 73. A Merozoit (9,7 $\mu \times$ 2,2 μ) from a sixteen-cell cyst (liver). The evidence that this is from a sixteen-cell cyst is the close similarity of this type of merozoits to those contained in mature sixteen-cell cysts and the association of this merozoit with such cysts.

Fig. 74. Zygocyst (17,8 $\mu \times$ 20 μ) having twenty-four mature sporozoits. Distinguished from schizont cysts by the number of young and by the size and sharpness of the chromatin bodies, which number about sixteen; no achromatic material (marrow).

Figs. 75, 76. Sporozoits.

Fig. 75. Sporozoit (10 $\mu \times$ 3 μ) just set free; form slender; cytoplasm a coarse alveolar network: nucleus long and composed of about sixteen chromatin bodies entirely distinct, and free from achromatin material (heart).

Fig. 76. Sporozoit (Parasites 9,6 $\mu \times$ 2,2 μ, Nucleus 3,3 $\mu \times$ 1,8 μ) after a short period of growth; posterior end (uppermost in the figure) enlarged, nucleus condensed, chromatin bodies reduced in size, achromatic matrix conspicuous (marrow).

Figs. 77—86. Merozoits and gametocytes from cysts with two, four, or eight (rather than sixteen) young.

Fig. 77. Merozoit (Parasites 10,4 $\mu \times$ 3 μ, Nucleus 4,7 $\mu \times$ 2,6 μ) in process of becoming a young secondary gametocyte, comparable to Figure 76, and having the same characters except as to size of body and nucleus (marrow). Achromatic matrix is becoming more conspicuous (compare with Figure 72).

Fig. 78. Merozoit showing growth and loss of chromatin bodies. Two apparently new bodies present, possibly new chromatin bodies. Vacuoles have appeared in the achromatin matrix (liver).

Fig. 79. Young secondary macrogametocyte (8,6 μ × 4,3 μ) forming tail flexure; chromatoid granules; nucleus without membrane; anterior end containing old chromatin bodies, posterior end having the form of a crude network; no new chromatin bodies (marrow).

Fig. 80. Secondary macrogametocyte (8,5 μ × 5,7 μ), like that of Figure 79, but with new chromatin bodies forming on the network at the posterior end and already well developed at the anterior end (marrow).

Fig. 81. An older secondary macrogametocyte with a typical network nucleus (liver).

Fig. 82. Young secondary microgametocyte; nucleus in network stage with chromatin bodies forming (spleen).

Fig. 83. Young secondary microgametocyte (11,4 μ × 2,9 μ) with chromatin bodies forming on the nuclear membrane (blood vessels of the intestine).

Fig. 84. Secondary microgametocyte (12,8 μ × 2,8 μ) with hook-like tail flexure. Nucleus with single vacuole in achromatin matrix; nuclear membrane and one chromatin body, probably an old one (blood vessels of the intestine).

Fig. 85. Young secondary microgametocyte (10 μ × 5 μ) with nucleus in network stage and chromatin bodies at the nodes (marrow).

Secondary schizonts and their cysts; growth of schizonts; living parasites and miscellaneous cases (Figs. 86—116).

Figs. 86 - 91. Secondary schizonts and their cysts.

Fig. 86. Young secondary schizont (12,8 μ × 1,8 μ) with nucleus in the network stage and with the body strongly curved so as to produce a sharp angle at both ends of the inner or strongly curved surface (blood vessels of the intestine).

Fig. 87. Secondary schizont (11,9 μ × 3,7 μ) with nucleus in process of division (liver).

Fig. 88. Secondary schizont cyst (11,4 μ × 2,8 μ) with two nuclei (blood vessels of the intestine).

Fig. 89. Secondary schizont cyst (12,8 μ × 3,1 μ) with two merozoits; chromatin bodies closely massed (blood vessels of the intestine).

Fig. 90. Secondary schizont cyst (12,1 μ × 2,8 μ) with three merozoits (intestin).

Fig. 91. Cyst (11,4 μ × 4,2 μ) with two merozoits; nucleus of one with network and chromatin bodies at the nodes (marrow).

Fig. 92. Two merozoits of a two-cell schizont cyst approaching maturity (marrow).

Fig. 93. Gametocyte (?) cyst from which two gametes are being differentiated. Schizonts, on the other hand, have a complete diagonal cleavage (e. g. Figs. 26, 89).

Figs. 94—103. Stages of growth of primary and early secondary merozoits.

Fig. 94. A merozoit (sporozoit?) which is destined to undergo schizogony. It has been derived from the condition seen in Figure 72 or 75. There has been little growth, but the chromatin bodies, about 21 in number, are in process of dividing or are in couples as if they had just undergone fission. Not all of the 16 chromatin bodies have divided.

Fig. 95. A merozoit showing growth. Some of the chromatin bodies are dividing (they appear elongated and somewhat dumb-bell shaped), others have already divided (daughter chromosomes very small), others are enlarged ready to divide, and still others, medium in size, are not ready to divide. There is no achromatic material (marrow).

Fig. 96. A schizont in which the dividing chromatin bodies appear to form a network.

Fig. 97. A schizont showing considerable growth (marrow). The nucleus contains fifteen more or less distinct couplets of small chromatin bodies and one or two additional single bodies. There is a slight amount of achromatin material beginning to appear.

Fig. 98. Schizont of medium size. Nucleus circular in outline, having several conspicuous, but still very small, chromatin bodies. The achromatic matrix is very apparent.

Fig. 99. Large schizont with nucleus elongated crosswise. Very small chromatin grains, about thirty-two in number, embedded in a very conspicuous achromatic matrix.

Fig. 100. Schizont 12,8 $\mu \times$ 17,2 μ. Chromatin bodies very small, achromatic matrix very dense (marrow).

Fig. 101. Schizont ready for schizogony. Posterior end very large, spaces of the network much enlarged. Nucleus without chromatin bodies (marrow).

Fig. 102. Schizont (11,9 $\mu \times$ 5,2 μ) derived from merozoit like that seen in Figure 72 or Figure 92, and having a number of chromatoid bodies (liver).

Fig. 103. Schizont (10,8 $\mu \times$ 6,7 μ) of same type as Figure 102 with nucleus in process of division (spleen).

Fig. 104. Schizont cyst (18,6 $\mu \times$ 10 μ) with one side indented (marrow). Nucleus in a state frequently encountered; achromatin dense, chromatin bodies embedded in it, nucleus constricted but no evidence of a spindle such as we have in the cleavage of a zygote. (See Figure 18.)

Fig. 105. Zygote. Nucleus strangely indented and having chromatin bodies arranged in rows, probably due to a previously existing network. Large chromatin bodies not yet divided. Daughter chromatin bodies already reduced in size; achromatin matrix strongly developed (spleen).

Figs. 106—111. Drawn from living parasites.

Fig. 106. Macrogametocyte (15,7 $\mu \times$ 5 μ) with a large vacuole near either end of the body (marrow).

Fig. 107. Microgametocyte showing chromatoid granules, homogeneous cytoplasm at the anterior end and mucous secretion at the posterior end (blood from neck).

Fig. 108. Microgametocyte drawn with mag. (ZEISS $^{1}/_{18}$ in. oil immersion) of about 2000 diameters (foot).

Fig. 109. Macrogametocyte; chromatoid bodies very abundant (heart). Nucleus has network with faint chromatin bodies. Tail very slender.

Fig. 110. Macrogametocyte. Nucleus abnormally broken up into six spherical bodies. Network of cytoplasm had granular appearance at nodes (heart).

Fig. 111. Merozoit. Nucleus has several spherical bodies in it. Two vacuoles in the cytoplasm (liver).

Fig. 112. Macrogametocyte (10,7 $\mu \times$ 5,7 μ) with tail projected on the body, showing breadth of tail at angle of flexure (heart).

Fig. 113. Microgametocyte with nucleus in two portions, one in tail, the other in body. Chromatoid bodies superficial to the concave side of the tail (marrow).

Fig. 114. Two merozoits so folded as to show that they are flattened at the edge (marrow).

Fig. 115. Zygote having longitudinal fibres in the nucleus, the whole so arranged as to form a spindle-shaped structure with sharp points at the poles. Achromatin material dense and gathered into a kind of network (marrow).

Fig. 116. Marrow cell with three normal merozoits. The marrow cell has little cytoplasm.

Plate XVIII.

For explanation of this Plate see text, pages 320—322.

Bibliographia protozoologica.

Protozoen-Literatur

1907 II. Teil,*) 1908 II. Teil*) und 1909 I. Teil.

Zusammengestellt vom Concilium Bibliographicum.**)

Allgemeines.

Cockerell, T. D. A. (1907): The Protozoa of the University of Campus. Univ. Colorado Stud. Vol. 4 p. 261—264.

Daniels, C. W. and A. T. Stanton (1907): Studies in Laboratory Work. Second Edition. Thoroughly revised, with many new and additional illustrations. London, John Bale, Sons & Danielsson Ltd. 8° XIV 491 p. 4 pls. 163 figs. [Tropical medicine. Animal parasitology. Carriers (Diptera by F. V. Theobald).]

Dobell, C. Clifford (1909): Researches on the Intestinal Protozoa of Frogs and Toads. Quart. Journ. micr. Sc. Vol. 53 p. 201—277 4 pls. 1 fig.

Dutton, J. Everett, John L. Todd and E. N. Tobey (1907): Concerning certain Parasitic Protozoa observed in Africa. Ann. trop. Med. Parasit. Vol. 1 p. 285—370 13 pls. 34 figs.

Fauré-Fremiet, E. (1908): The Relational Life of Protozoa. The Career of a Simple Organism. Scient. Amer. Suppl. Vol. 66 p. 108—109 5 figs.

— (1908): Sur l'étude ultramicroscopique de quelques protozoaires. C. R. Soc. Biol. Paris T. 64 p. 582—584.

*) I. Teil cf. diese Zeitschrift Bd. 12 p. 331–376.

**) Diese Bibliographie beruht auf Einsichtnahme der einzelnen Publikationen und es finden somit nur diejenigen Arbeiten Aufnahme, die ans Concilium gelangen. Wir richten deshalb an alle auf dem Gebiete der Protozoenforschung arbeitenden Forscher die Bitte, unser Bestreben, die gesamte Protozoenliteratur speziell auch die einschlägigen medizinischen Arbeiten möglichst vollständig zusammenzustellen, durch Zusendung der betreffenden Arbeiten an die Adresse: Concilium Bibliographicum, Zürich, Hofstr. 49, unterstützen zu wollen. Die Mitwirkung der Verleger ist auch sehr erwünscht.

Fiebiger, J. (1909): Über Protozoen als Parasiten der Fische. Verh. zool.-bot. Ges. Wien Bd. 59 p. (32)—(48) 12 Fig.

Hartmann, Max (1909): Autogamie bei Protisten und ihre Bedeutung für das Befruchtungsproblem. Arch. Protistenk. Bd. 14 p. 264—334 27 Fig. — Auch separat: Jena, Gustav Fischer, 8° 72 p. 27 Fig. Mk. 2,—.

Hartmann, Max und S. v. Prowazek (1907): Blepharoplast, Caryosom und Centrosom. Ein Beitrag zur Lehre von der Doppelkernigkeit der Zelle. Arch. Protistenk. Bd. 10 p. 306—335 8 Fig.

Kemna, Ad. (1907): Les caractères et l'emplacement des Spongiaires. Ann. Soc. zool. malacol. Belgique T. 42 p. 72—97, 129. — Discuss. p. 129—137. — Réponse par A. K. p. 137—147. [Descendence de Protozoaires, différents de ceux d'où descendent les autres métazoaires. (Discuss.: Delage, Maas, Schouteden, van Beneden.)]

Kerr, Arthur Francis George (1908): Protozoal Diseases in Man. Dublin Journ. med. Sc. 1908 p. 93—100.

Mast, S. O. (1908): Mechanics of Orientation in Lower Organisms. (Amer. Soc. Zool.) Science N. S. Vol. 27 p. 952.

McClendon, J. F. (1909): Protozoan Studies. Journ. exper. Zool. Vol. 6 p. 265—283 2 pls.

Miner, Roy W. (1909): The Series of Protozoan Models. Amer. Mus. Journ. Vol. 9 p. 103—106 1 pl. 2 figs.

Robertson, Muriel (1908): A Preliminary Note on Haematozoa from some Ceylon Reptiles. Spolia Zeylanica Vol. 5 p. 178—185 1 pl. [6 nn. spp. in: Trypanosoma 3, Haemogregarina 3.]

Scala, Augusto C. (1908): Fijación y Conservación de Protozoarios. Rev. Mus. La Plata T. 15 p. 54—60.

Schilling, Claus (1908): Bericht über eine Studienreise nach West-Afrika. Klin. Jahrb. Bd. 19 p. 1—40 8 Fig.

Sieber (1908): Versuche über Einwirkung von Galle auf Bacterien und Protozoen. Verh. Ges. deutsch. Nat. Ärzte Vers. 79 Teil 2 Hälfte 2 p. 551—552. [Trypanosomen und Spirochäten werden aufgelöst.]

Mikroskopische Technik.

Achard, Ch. et M. Aynaud (1908): Coloration vitale des globulins par le rouge neutre. C. R. Soc. Biol. Paris T. 65 p. 442—443.

Arning, Ed. (1907): Neue Anwendungsweise der von Siedentopf angegebenen Dunkelfeldbeleuchtung. (Ärztl. Ver. Hamburg.) Deutsch. med. Wochenschr. Jahrg. 33 p. 2118—2119.

Barannikoff, J.: cf. sub Spirochäten.

Beck, Conrad (1907): The Illumination of Opaque and Unmounted Objects. Journ. Quekett micr. Club (2) Vol. 10 p. 193—194.

Benda, C. (1907): Zur Kritik der Levaditi'schen Silberfärbung von Mikroorganismen. (Berl. med. Ges.) München. med. Wochenschr. Jahrg. 54 p. 349. — Diskuss. p. 492—498, 500—501.

Berger, Emile (1906): Note sur un examen comparatif des loupes Bruecke, Jackson et Berger. C. R. Soc. Biol. Paris T. 60 p. 63—64.

Billet, A. (1906): Modification à la méthode de coloration de Romanowsky-Giemsa. C. R. Soc. Biol. Paris T. 61 p. 753—754.

Bonney, Victor (1908): Eine neue und sehr schnelle Dreifach-Färbung. Arch. path. Anat. Bd. 193 p. 547—549.

Bruckner, Jean (1908): Une modification pratique du procédé de Romanowsky, pour le sang et le tréponème. (Réunion biol. Bucarest.) C. R. Soc. Biol. Paris T. 64 p. 968—969.

Carreras, R. (1908): L'impregnazione argentica associata all'uso della piridina per la colorazione del tessuto nervoso. Nota di tecnica. Monit. zool. ital. Ann. 19 p. 177—179.

Ciaccio, Carmelo (1907): Colorazione dei tessuti con una miscela colorante di eosina, orange, bleu di toluidina. Monit. zool. ital. Ann. 18 p. 277—278.

— (1907): Sopra alcune tinte di ematossilina. Monit. zool. ital. Ann. 18 p. 46—47.

Cole, Aaron Hodgman (1907): Manual of Biological Projection and Anesthesia of Animals. Chicago, A. H. Cole 6022 Monroe Ave. 8° 200 p. 1 pl. 28 figs. $ 1,50. [Handy guide. Projection in class demonstrations. Available lights. Apparatus. Use of chloretone on type animals from Rhizopods to Reptiles. Hypnosis or complete anesthesia as required. Collection and keeping of suitable forms. Types of cells and methods of contention.]

Cotton, A. et H. Mouton (1906): Les ultramicroscopes et les objets ultramicroscopiques. Paris, Masson, 8° 232 p. 17 figs.

De Witt, Lydia M. (1907): A Simple Elastic Tissue Stain. Amer. Journ. Anat. Vol. 6, Anat. Rec. Vol. 1 p. 74—75.

Dietrich, A. (1908): Die Bedeutung der Dunkelfeldbeleuchtung für Blutuntersuchungen. Berlin. klin. Wochenschr. Jahrg. 45 p. 1447—1450 4 Fig.

Dominici, Henri (1905): Sur un procédé de technique histologique appliqué à l'étude des cellules conjonctives. Folia haematol. Jahrg. 2 p. 219—226.

Dreyer, Lothar (1906): Einige Bemerkungen zur Gramfärbung. Hyg. Rundsch. Jahrg. 16 p. 1185—1186.

Engel (1908): Ein Kreuztisch mit automatischer Einstellung. Zeitschr. wiss. Mikr. Bd. 25 p. 60—62 1 Fig.

Ernemann, A. (1908): Die Herstellung von mikroskopischen Kinematogrammen, mit Vorführung solcher. Verh. Ges. deutsch. Nat. Ärzte Vers. 79 Tl. 2 Hälfte 1 p. 252—254.

Escomel (1908): Un nouveau colorant pour l'histologie. Bull. Soc. anat. Paris Ann. 83 p. 201—204. [Colorations de coupes dans l'Aïrampo.]

Evatt, Evelyn John (1908): The Cameragraph: A Drawing Apparatus. Journ. Anat. Physiol. Vol. 42 p. 335—336 1 fig.

Ewell, Marshall D. (1908): The Present Status of Micrometry. Journ. R. micr. Soc. London 1908 p. 682—692.

da Fano (1908): Demonstration neuer Färbemethoden (Glia und Ganglienzellen). (Ges. Charité-Ärzte.) Berlin. klin. Wochenschr. Jahrg. 45 p. 1621. [Modifikation der Cajal'schen Methode.]

Farrar, Clarence B. (1905): The Growth of Histologic Technique during the Nineteenth Century. Rev. Neurol. Psychiatry Edinburgh Vol. 3 p. 501—515, 573—594.

Fichera, G. (1908): Beitrag zum Studium der Struktur des normalen und pathologischen Nervensystems. Neue Methoden der mikroskopischen Untersuchung. Centralbl. allg. Path. path. Anat. Bd. 19 p. 455—462 1 Taf.

Fischel, Alfred (1908): Über Beeinflussung der vitalen Nervenfärbung durch chemische Agentien. Zentralbl. Physiol. Bd. 22 p. 591—597.

— (1908): Über eine vitale und spezifische Nervenfärbung. Zeitschr. wiss. Mikr. Bd. 25 p. 154—157.

Fischer, Hugo (1908): Zur Färbungstheorie. Zeitschr. physik. Chem. Bd. 63 p. 480—486.

Flatters, Abraham (1907): Notes and Criticisms on Microscopical Work. Trans. Manchester micr. Soc. 1906 p. 54—59.

Foix et Mallein (1907): Procédé d'accélération des colorations lentes par le courant électrique. Semaine méd. Ann. 27 p. 324.

Fraenkel, Eugen (1908): Zur Best'schen Glykogenreaktion. (Ärztl. Ver. Hamburg.) Berlin. klin. Wochenschr. Jahrg. 45 p. 1990. [Nicht elektiv für Glykogen färbt auch Fibrin.]

François-Franck, Ch. A. (1908): Micro-cinématographie de mouvements browniens. (Note technique.) C. R. Soc. Biol. Paris T. 64 p. 272—273.

Friedenthal, Hans (1907): Über Fixationsgemische mit Trichloressigsäure und Uranylacetat. Sitz.-Ber. Ges. nat. Freunde Berlin 1907 p. 207—211.

Gage, Simon Henry (1908): The Origin and Development of the Projection Microscope. Trans. Amer. micr. Soc. Vol. 28 p. 5—58 6 pls. 19 figs.

Gager, C. Stuart (1907): Radium in Biological Research. Science N. S. Vol. 25 p. 589—590. [A radioactive miroscopic slide. To discharge electrified paraffin ribbons.]

Gaidukov, N. (1908): Über Einrichtungen für Dunkelfeldbeleuchtung und Ultramikroskopie. Verh. Ges. deutsch. Nat. Ärzte Vers. 79 Teil 2 Hälfte 1 p. 226—228.

Galesescu, Pierre (1908): Coloration élective de la névroglie. C. R. Soc. Biol. Paris T. 65 p. 429—430.

Gebhardt, W. (1908): Aus optischen und mechanischen Werkstätten. I. Zeitschr. wiss. Mikr. Bd. 24 p. 396—421 13 Fig.

— (1908): Über neue leicht sichtbare Mikrometerteilungen. Zeitschr. wiss. Mikr. Bd. 24 p. 366—369 2 Fig.

Géraudel, Emile (1908): Méthode de coloration par le bleu polychrome, Van Gieson-Xylol. Bull. Soc. anat. Paris Ann. 83 p. 204—206.

Giltay. E. (1908): Einiges über Beleuchtung beim Mikroskopieren. Zeitschr. wiss. Mikr. Bd. 25 p. 163—169.

Gordon, J. W. (1908): A New Lens for High-Power Microscopy. Journ. R. micr. Soc. London 1908 p. 526.

— (1908): Illuminating Apparatus for the Microscope. Journ. R. micr. Soc. London 1908 p. 425—429 2 figs.

— (1908): Mercury Globules as Test Objects for the Microscope. Journ. R. micr. Soc. London 1908 p. 6—19 1 pl. 5 figs.

Greenman, M. J. (1907): A New Laboratory Projection Apparatus. Amer. Journ. Anat. Vol. 7 Anat. Rec. p. 170—178 10 figs.

Guéguen, F. (1906): Chevalet permettant d'observer au microscope les tubes de culture. C. R. Soc. Biol. Paris T. 61 p. 229—230 2 figs.

Guyer, Michael F. (1906): Animal Micrology. Practical exercises in microscopical methods. Chicago, The University of Chicago Press, 8° IX 240 p. 71 figs. $ 1,75 net.

Hall, J. Walker (1907): The Staining of Animal Parasites. Brit. med. Journ. 1907 Vol. 1 p. 556.

Halphen, G. et And. Riche (1908): Les phénomènes de teinture en histologie. Rev. Scient. (5) T. 9 p. 321—324.

Hansen, F. C. C. (1906): Einige Farbfilter, sowie einige histologische Färbungen für mikrophotographische Aufnahmen. Zeitschr. wiss. Mikr. Bd. 23 p. 410—414.

— (1908): Über die Ursachen der metachromatischen Färbung bei gewissen basischen Farbstoffen. Zeitschr. wiss. Mikr. Bd. 25 p. 145—153.

Hart, Karl (1908): Die Färbung der elastischen Fasern mit dem von Weigert angegebenen Farbstoff. Centralbl. allg. Path. path. Anat. Bd. 19 p. 1—3.

Harvey, W. Henwood (1907): A Dust-excluding Histological Reagent Bottle. Zeitschr. wiss. Mikr. Bd. 24 p. 280 1 Fig.

Heiberg, K. A. (1906): Beiträge zur Kenntnis der Langerhans'schen Inseln im Pankreas, nebst Darstellung einer neuen mikroskopischen Messungsmethode. Anat. Anz. Bd. 29 p. 49—60.

Heimstädt, Oskar (1908): Neuer großer Projektionsapparat der Firma C. Reichert in Wien. Zeitschr. wiss. Mikr. Bd. 24 p. 370—381 6 Fig.

— (1907): Neuerungen an Spiegelkondensoren. Zeitschr. wiss. Mikr. Bd. 24 p. 233—242 7 Fig.

— (1908): Spiegelkondensor und Paraboloid. Zeitschr. wiss. Mikr. Bd. 25 p. 188—195 1 Fig.

Henry, Charles (1908): A propros de colorants nouveaux. — Considérations histologiques. (Communication complémentaire.) Bull. Inst. gén. psychol. Ann. 8 p. 145—156.

van Heurck, Henri (1907): Note sur un condensateur à miroir destiné à montrer les particules ultra-microscopiques. Ann. Soc. belge Micr. T. 28 p. 45—55 6 figs.

— (1907): Les médiums à haut indice. Ann. Soc. belge Micr. T. 28 p. 56—63.

Heusner, Hans L. (1908): Über einen Objekttisch mit auswechselbaren Tischplatten. Zeitschr. wiss. Mikr. Bd. 25 p. 62—64 1 Fig.

Hinterberger, Alexander (1907): Wie kann man absolut reine oder auch beschickte Deckgläser transportieren? Zeitschr. wiss. Mikr. Bd. 24 p. 145—147 2 Fig.

Hornowski, J. (1908): Über eine kombinierte Färbung mit der Methode von van Gieson und Weigert (für elastische Fasern). Centralbl. allg. Path. path. Anat. Bd. 19 p. 745—746.

v. Ignatowsky, W. (1908): Ein neuer Spiegelkondensor. Zeitschr. wiss. Mikr. Bd. 25 p. 64—67 2 Fig.

Jacobsthal, E. (1908): Der Objektträgerstempel. Zeitschr. biol. Techn. Method. Bd. 1 p. 210 1 Fig. [Einteilung des Objektträgers in einzelne Felder.]

Jensen, Vilh. (1908): Über Färbung mit Kresylviolett. (Biol. Ges. Kopenhagen.) Skand. Arch. Physiol. Bd. 20 p. 439.

Joseph. F. H. (1908): A Modification of the Romanowsky Stain. Lancet Vol. 175 p. 875—876.

Kaiserling, Carl (1906): Ein neues Modell eines Universal-Projektionsapparates (E. Leitz, Wetzlar). Zeitschr. wiss. Mikr. Bd. 23 p. 440—448 7 Fig.

Kamienski, F. (1908): Nouveau moyen pour faciliter les observations microscopiques et la microphotographie stéréoscopique (platine-balance). Bull. intern. Acad. Sc. Cracovie 1908 p. 651—655 2 figs.

Kató, Hisayoshi (1908): Eine neue Neurofibrillenfärbung. Folia neuro-biol. Bd. 2 p. 262—264. [Aus Formalin über Thermostaten in Mischung von Äthylendiamin resp. Argentamin und Silbernitratlösung und, wenn braunschwarz geworden, in stark reduzierende Lösung (Hydrochinon, Formalin und Aq. dest.).]

Köhler, A. (1908): Swingle's Einstellverfahren für die Mikrophotographie mit ultraviolettem Licht. Zeitschr. wiss. Mikr. Bd. 24 p. 360—366 1 Fig.

König, W. (1907): Über die Grenzen der Leistungsfähigkeit der Mikroskope. Ber. oberhess. Ges. Nat. Heilk. Gießen naturw. Abt. N. F. Bd. 1 p. 110—111.

— (1907): Über das Ultramikroskop. Ber. oberhess. Ges. Nat. Heilk. Gießen naturw. Abt. N. F. Bd. 1 p. 112—114.

Koenigsberger, Joh. (1908): Geradsichtiges Prisma und Apparat zur Projektion von Spektren und zur Beleuchtung mit spektralem Licht. Zeitschr. wiss. Mikr. Bd. 25 p. 287—288.

Kreibich, K. (1907): Über Silberimprägnation von Bakteriengeißeln. Wien. klin. Wochenschr. Jahrg. 20 p. 633—634.

Langeron, Maurice (1908): Technique microscopique appliquée à la médecine coloniale. Arch. Parasitol. T. 12 p. 135—163 6 figs.

Latour, B. (1906): Le microscope nouveau de Zeiss à lumière ultra-violette. Le Cosmos N. S. T. 54 p. 540—543 4 figs.

Lentz, Otto (1907): Ein Beitrag zur Färbung der Negri'schen Körperchen. Centralbl. Bakt. Parasit. Abt. 1 Orig. Bd. 44 p. 374—378 3 Taf.

Letherby, Alfred (1907): Systematic Exposure with Transmitted Light in Photomicrography. Journ. R. micr. Soc. London 1907 p. 651—655.

Letulle, Maurice et Eugène Normand (1907): Coloration différentielle des fibres élastiques par une „Méthode de l'orcéine" modifiée. Bull. Soc. anat. Paris Ann. 82 p. 470—472.

Levi, Giuseppe (1907): Della colorazione elettiva del connettivo col metodo Bielschowsky. Monit. zool. ital. Ann. 18 p. 290—294.

Löwenstein, C. (1908): Einige Veränderungen an der Mallory'schen Anilinblau-Orangefärbung. Verh. deutsch. path. Ges. 12 p. 273—274.

Martini, P. (1908): Über die neueren Fortschritte in der Mikroskopie unter spezieller Berücksichtigung des Apparates zur Mikrophotographie mit ultraviolettem Licht. Verh. nat. Ver. Hamburg (3) Bd. 15 p. LXVI—LXVIII.

Mayer, Alfred G. (1908): On the Use of Carbon Dioxide in Killing Marine Animals. Biol. Bull. Vol. 16 p. 18.

Mayer, Paul (1908): Zur Bleichtechnik. Zeitschr. wiss. Mikr. Bd. 24 p. 353—356.

Mencl, Em. (1906): Über ein neues praktisches Alkoholometer für Präparationszwecke. Zeitschr. wiss. Mikr. Bd. 23 p. 423—424 1 Fig.

Merk (1907): Über die Dunkelfeldbeleuchtung (Reichert) und einige durch sie gewonnene Resultate. (Wissenschaftl. Ärzteges. Innsbruck.) Wien. klin. Wochenschr. Jahrg. 20 p. 958.

Merlin, A. A. C. Eliot (1907): Note on a New Prismatic Microscope Ocular. Journ. R. micr. Soc. London 1907 p. 643—645 3 figs.

— (1907): On Ghost Images seen in the Secondaries Coscinodiscus Asteromphalus, with some Remarks on the Highest Useful Ratio of Magnifying Power to Aperture. Journ. R. micr. Soc. London 1907 p. 646—650.

Metz, Carl (1906): Neuere Vervollkommnungen der Leitz'schen Mikroskop-Stative. Zeitschr. wiss. Mikr. Bd. 23 p. 430—439 5 Fig.

MOFFAT, E. (1908): Light Filters for Photomicrography. Journ. R. micr. Soc. London 1908 p. 20—22 1 pl.

MOLISCH, HANS (1907): Über die BROWN'sche Molekularbewegung in Gasen, sichtbar gemacht durch ein gewöhnliches Mikroskop. Zeitsch. wiss. Mikr. Bd. 24 p. 97—103 2 Fig.

NAGEOTTE, J. (1908): Technique rapide pour colorer les fibres à myéline des nerfs, de la moëlle et du cerveau (formol simple ou sulfaté, congélation, hématéine alunée). C. R. Soc. Biol. Paris T. 65 p. 408—410. [Fixation formol 10 %. Congélation, hématine, différentiation liquide de WEIGERT. Applicable aux grandes coupes. Pour coloration des fibres fines ajouter au formol sulfate de soude 1 à 7 %. — Auteur.]

NELSON, EDWARD M. (1907): An Astronomical Eye-Piece Used as a Simple Microscope. Journ. R. micr. Soc. London 1907 p. 284.

— (1907): An Improved Vertical Illuminator. Journ. R. micr. Soc. London 1907 p. 282—283 2 figs.

— (1907): A New Semi-apochromatic 1/6. Journ. R. micr. Soc. London 1907 p. 656—657 1 fig.

— (1907): Eye-pieces for the Microscope. Journ. R. micr. Soc. London 1907 p. 525—531 1 fig.

— (1908): An Auxiliary Illuminating Lens. Journ. R. micr. Soc. 1908 p. 673—674 1 fig. [To be fitted on microscope lamps.]

— (1908): FRANCIS WATKINS' Microscope. Journ. R. micr. Soc. London 1908 p. 137—145 4 figs.

— (1908): GREGORY and WRIGHT'S Microscope. Journ. R. micr. Soc. London 1908 p. 154—157 1 fig.

— (1908): Eye-pieces for the Microscope. Journ. R. micr. Soc. London 1908 p. 146—149.

NEUMAYER, VIC. L. (1906): Eine Modifikation der Härtung mit Formaldehyd unter Beseitigung des Geruches desselben. Anat. Anz. Bd. 29 p. 378—379.

PAPPENHEIM, A. (1908): Panoptische Universalfärbung für Blutpräparate. Med. Klin. Jahrg. 4 p. 1244.

PATTERSON, J. THOS. (1908): A Microscope-Stage Incubator. Biol. Bull. Vol. 14 p. 324—327, 2 figs.

PETERSEN, OTTO V. C. E. (1908): Einige Bemerkungen über Mikrophotographie. (Biol. Ges. Kopenhagen.) Skand. Arch. Physiol. Bd. 20 p. 432—435.

PIFFARD, HENRY G. (1907): A New Staining Method for Microorganisms. New York med. Journ. Vol. 86 p. 965—966.

PINOY, E. (1906): Nouvel appareil de microphotographie: possibilité d'obtenir, même à de forts grossissements, une image donnant l'idée de la structure d'un objet présentant une certaine épaisseur. C. R. Soc. Biol. Paris T. 61 p. 552—554 2 figs.

PLOWMAN, AMON B. (1906): An Object finder for the Micro-projection Apparatus. Science N. S. Vol. 24 p. 342—344 5 figs.

PORTER, ALFRED W. and P. F. EVERITT (1907): Diffraction Rings due to a Circular Aperture. Journ. R. micr. Soc. London 1907 p. 405—406.

POSNER, C. (1908): Die Verwendbarkeit der Dunkelfeldbeleuchtung in der klinischen Mikroskopie. Berlin. klin. Wochenschr. Jahrg. 45 p. 1444—1446 6 Fig.

QUIDOR, A. et A. NACHET (1907): Sur un nouveau microscope et ses applications à la microphotographie stéréoscopique. Bull. Soc. zool. France T. 32 p. 74—77 1 fig. — C. R. Acad. Sc. Paris T. 144 p. 908—910 1 fig.

Ravaut, P. et A. Ponselle: cf. sub Spirochäten.
Rawitz, Bernhard (1907): Lehrbuch der mikroskopischen Technik. Leipzig, Wilhelm Engelmann, 8° 438 pp. 18 Fig. Mk. 12.—.
Reichert, C. (1906): Über einen neuen Spiegelkondensor sur Sichtbarmachung ultramikroskopischer Teilchen. München. med. Wochenschr. Jahrg. 53 p. 2531—2533 5 Fig.
— (1908): Über einen neuen Spiegelkondensor. Verh. Ges. deutsch. Nat. Ärzte Vers. 79 Tl. 2 Hälfte 2 p. 73—74.
Reichert, Karl (1907): Beobachtungen der Geißeln von Bacterien im ungefärbten Zustande mit Hilfe des Spiegelkondensors. Vorläufige Mitteilung. Hyg. Rundsch. Jahrg. 17 p. 1121—1125.
— (1907): Ein neuer Spiegelkondensor. Wien. klin. Wochenschr. Jahrg. 20 p. 1327.
— (1907): Über einen neuen Ultraspiegelkondensor. Verh. Ges. deutsch. Naturf. Ärzte Vers. 78 Tl. 2 Hälfte 2 p. 68—71, 1 Fig.
— (1908): Neue Mikroskope und mikroskopische Hilfsapparate zur Sichtbarmachung ultramikroskopischer Teilchen. Verh. zool.-bot. Ges. Wien Bd. 58 p. (130)—(136) 3 Fig.
Rodenwaldt (1908): Eine Vereinfachung der Nissl'schen Färbung und ihre Anwendung bei Beriberi. Monatsschr. Psychiatr. Neurol. Bd. 23 p. 287—289.
Röthig, Paul (1907): Wechselbeziehung zwischen metachromatischer Kern- und Protoplasmafärbung der Ganglienzelle und dem Wassergehalt alkoholischer Hämatoxylinlösungen. Zeitschr. wiss. Mikr. Bd. 24 p. 109—128 1 Fig.
Ross, Ronald, J. E. Salvin-Moore and C. E. Walker (1907): A New Microscopical Diagnostic Method and some Simple Methods for Staining Liquid Blood. Lancet Vol. 173 p. 219—220.
Rubenthaler, G. (1907): Méthode générale de fixation ayant pour but de restreindre les artefacts. Zeitschr. wiss. Mikr. Bd. 24 p. 133—138.
Rudnew, Wladimir (1907): Über gleichzeitiges Fixieren, Entwässern und nachfolgendes Einbetten histologischer Objekte in einer äther-alkoholischen Celloidinlösung und über die Anwendung dieser Methode für das Studium des Nervensystems. (Vorläufige Mitteilung.) Zeitschr. wiss. Mikr. Bd. 24 p. 243—253.
Russell, James (1907): Address by the President. Trans. Edinburgh Field Nat. micr. Soc. Vol. 5 p. 423—431. [Illumination.]
Scala, Augusto C. (1908): Fijación y Conservación de Protozoarios. Rev. Mus. La Plata T. 15 p. 54—60.
Scheffler, Hugo (1907): Beiträge zur Kenntnis des Astigmatismus von Linsen. Zeitschr. Naturw. Stuttgart Bd. 78 p. 225—292 16 Fig.
Schneider, Josef und Georg Kunzl (1906): Spinnfasern und Färbungen im Ultramikroskope. Zeitschr. wiss. Mikr. Bd. 23 p. 393—409 1 Fig.
Schorr, Georg (1906): Ein neues Modell eines einfachen beweglichen Objekttisches. Zeitschr. wiss. Mikr. Bd. 23 p. 425—427 1 Fig.
Schouten, S. L. (1907): Methode zur Anfertigung der gläsernen Isoliernadeln, zu dem Isolierapparat für Mikroorganismen. Zeitschr. wiss. Mikr. Bd. 24 p. 258—268 6 Fig.
Schreiber, L. und P. Schneider (1908): Eine Methode zur Darstellung von Pigmenten und ihrer farblosen Vorstufen mit besonderer Berücksichtigung des Augen- und Hautpigments. München. med. Wochenschr. Jahrg. 55 p. 1918—1921 2 Fig.

Schridde, Herm. und Adolf Fricke (1906): Über gleichzeitige Fixierung und Durchfärbung von Gewebsstücken. Centralbl. allg. Path. path. Anat. Bd. 17 p. 721—723. — Nachtrag p. 952.

Schütz (1908): Die Silberimprägnation der Neurofibrillen nach Bielschowsky. Neurol. Centralbl. Jahrg. 27 p. 909—911.

— (1908): Über die Neurofibrillenfärbung nach Bielschowsky mit Demonstration von Präparaten (Naturw. med. Ges. Jena.) München. med. Wochenschr. Jahrg. 55 p. 2364—2365.

Schwenter-Trachsler (1908): Über Mucin und Mastzellenkörner. Monatsh. prakt. Dermat. Bd. 47 p. 1—12, 83—100. [Vergleichende Tinktionsversuche.]

Siedentopf, H. (1907): Paraboloid-Kondensor, eine neue Methode für Dunkelfeldbeleuchtung zur Sichtbarmachung und zur Moment-Mikrophotographie lebender Bacterien etc. (insbesondere auch für Spirochaete pallida). Zeitschr. wiss. Mikr. Bd. 24 p. 104—108 1 Fig.

— (1907): Paraboloid-Kondensor von Zeiss, eine neue Methode für Dunkelfeldbeleuchtung zur Sichtbarmachung lebender Bacterien etc. (insbesondere für Spirochaeta pallida). München. med. Wochenschr. 54 p. 1503.

— (1908): Die Vorgeschichte der Spiegelkondensoren. Zeitschr. wiss. Mikr. Bd. 24 p. 382—395 16 Fig.

— (1908): Über mikroskopische Beobachtungen bei Dunkelfeldbeleuchtung. Zeitschr. wiss. Mikr. Bd. 25 p. 273—282 2 Taf. 4 Fig.

— (1908): Über Spiegelkondensoren. Erwiderung an Herrn O. Heimstädt. Zeitschr. wiss. Mikr. Bd. 25 p. 195—199.

Soetbeer (1907): Referat über die medizinischen Untersuchungen mit dem Ultramikroskop. Ber. oberhess. Ges. Nat. Heilk. Gießen naturw. Abt. N. F. Bd. 1 p. 114.

Spiegel, L. (1907): Zur Kenntnis der Weigert'schen Elastinfarbstoffe. Arch. path. Anat. Bd. 189 p. 17—21.

Stempell, W. (1908): Das neue Lumière'sche Verfahren der Farbenphotographie und seine Verwendbarkeit für wissenschaftliche, speziell mikrophotographische Zwecke. Sitz.-Ber. naturhist. Ver. preuß. Rheinl. Westfalen 1907 C p. 26—31.

Studnička, F. K. (1905): Über eine neue Anwendung des Abbe'schen Kondensors. Vorl. Mitt. Sitz.-Ber. böhm. Ges. Wiss. math.-nat. Cl. — Véstn. české Spol. Náuk Tř. math.-přirod. 1905 No. 4, 4 pp.

Swingle, Walter T. and Lyman J. Briggs (1907): Improvements in the Ultraviolet Microscope. Science N. S. Vol. 26 p. 180—183 2 figs.

v. Tellyesniczky, Koloman (1907): Die Bedeutung der Fette in der Fixiertechnik und bei der Schnittfärbung. Math.-nat. Ber. Ungarn Bd. 22 p. 455.

Thoma, R. (1907): Pikrinsäurekarmin. Zeitschr. wiss. Mikr. Bd. 24 p. 139.

Van Gieson, Ira (1907): Eine sichere und einfache Methode für Nervensystemstudien, hauptsächlich ihre Anwendung in der Diagnose und Untersuchung der Negri'schen Körperchen. Centralbl. Bakt. Parasit. Abt. 1 Orig. Bd. 43 p. 205—206.

Verocay, José (1908): Beseitigung der „Formolniederschläge“ aus mikroskopischen Schnitten. Centralbl. allg. Path. path. Anat. Bd. 19 p. 769—774.

de Vries (1907): Démonstrations de micro-stéréo-photographies. (Soc. néerland. ophthalm.) Ann. Ocul. Paris T. 138 p. 372.

Weber (1906): Über Doppelbrechung und Polarisation. Deutsch. Zeitsch. Chir. Bd. 85 p. 263—266. [In der Mikrotechnik.]

v. Winiwarter, Hans und G. Sainmont (1908): Erfahrungen über die Flemming'sche Dreifärbung. Zeitschr. wiss. Mikr. Bd. 25 p. 157—162.

Winkler, Ferdinand (1908): Über intraurethrale Lebendfärbung der Leukocyten und der Epithelzellen. Monatsh. prakt. Dermat. Bd. 46 p. 227—232.

Wolff, Max (1908): Eine einfache und dauerhafte Saugpipette zum Gebrauch bei mikroskopischen Arbeiten. Centralbl. Bakt. Parasit. Abt. 1 Orig. Bd. 46 p. 648—651, 2 Fig.

Zimmermann, A. (1908): Über die Anwendung der Methode von Bielschowsky zur Darstellung der Bindegewebsfibrillen. Zeitschr. wiss. Mikr. Bd. 25 p. 8—13.

I. Kl.: *Sarcodina.*

I. Subkl.: *Rhizopoda.*

(Hierbei Literatur über Amöben-Dysenterie.)

Andrussow, N. (1905): Maeotische Stufe. Verh. min. Ges. St. Petersburg (2) Bd. 43 p. 289—449 2 Taf. [Foraminifera.]

Bernet, Edm. (1908): La zone des cols entre Adelboden et Frutigen. Eclogae geol. helvet. Vol. 10 p. 213—292 1 pl. 19 figs. 1 Kart. [Foraminifera.]

Bohne, A. und S. v. Prowazek cf. sub Euflagellata.

Boussac, Jean (1908): Note sur la succession des faunes nummulitiques à Biarritz. Bull. Soc. géol. France (4) T. 8 p. 237—255.

Braun, M. (1908): Über riesige Rhizopoden der Tiefsee. Schrift. phys. ökon. Ges. Königsberg Jahrg. 48 p. 110—112.

Bunting, C. H. (1906): Haematogenous Amoebic Abscess of the Lung. Arch. Schiffs- u. Tropen-Hygiene Bd. 10 p. 73—79.

Bureau, Gustave et Alphonse Labbé (1908): Sur l'affection connue sous le nom de Botryomycose et son parasite. C. R. Acad. Sc. Paris T. 147 p. 697—699. [Botryomycose est une amoebiose dont Botryomyces n'est qu'un stade plastogamique.]

Castellani, Aldo (1908): Note on a Liver Abscess of Amoebic Origin in a Monkey. Parasitology Vol. 1 p. 101—102 1 pl. [Entamoeba nuttalli n. sp.]

Chapman, Frederick (1907): On the Relationship of the Genus Girvanella, and its Occurrence in the Silurian Limestones of Victoria. Rep. Austral. Ass. Adv. Sc. Vol. 11 p. 377—386 3 pls.

— (1907): Recent Foraminifera of Victoria: some Littoral Gatherings. Journ. Quekett micr. Club (2) Vol. 10 p. 117—146 2 pls. [Spirillina denticulogranulata n. sp. 3 nn. varr. in: Clavulina, Lagena, Polystomella.] — Note on Foraminifera by A. Earland p. 199—203.

— (1908): A Sketch of the Life-History of the Foraminifera. Victorian Natural. Vol. 25 p. 122—124.

Chatwin, Charles P. and Thomas H. Withers (1908): The Zones of the Chalk in the Thames Valley between Goring and Shiplake. Proc. Geol. Ass. London Vol. 20 p. 390—419 1 map. [Foraminifera.]

Checchia-Rispoli, G. (1909): Nota preventiva sulla Serie nummulitica dei dintorni di Bagheria e di Termini-Imerese in provincia di Palermo. Giorn. Soc. Sc. nat. econ. Palermo Vol. 26 p. 156—188.

Checchia-Rispoli, G. (1909): Sulla provenienza di alcune Lepidocicline dei dintorni di Termini-Imerese (Palermo). Giorn. Soc. Sc. nat. econ. Palermo Vol. 26 p. 212—218.

Checchia-Rispoli, G. e M. Gemmellaro (1909): Prima nota sulle Orbitoidi del Sistema Cretaceo della Sicilia. Giorn. Soc. Sc. nat. econ. Palermo Vol. 26 p. 198—211 2 tav. [6 nn. spp.]

Cockerell, T. D. A. cf. sub Allgemeines.

Couffon, Oliver (1907): Le miocène en Anjou. Bull. Soc. Etud. scient. Angers N. S. Ann. 36 p. 157—196; Ann. 37 p. 49—58. [Foraminifera.]

Cushman, Joseph A. (1908): Foraminifera of the Woods Hole Region. Proc. Boston Soc. nat. Hist. Vol. 34 p. 21—34 1 pl. [1 n. var. in Biloculina.]

— (1909): Ammodiscoides, a New Genus of Arenaceous Foraminifera. Proc. U. S. nat. Mus. Vol. 36 p. 423—424 1 pl. [turbinatus n. sp.]

Dalton, Leonard V. (1908): Notes on the Geology of Burma. Quart. Journ. geol. Soc. Vol. 64 p. 604—644 4 pls. [Foraminifera.]

Deecke, W. et Paul Petitclerc (1908): Gisement du „Voyet“ à Authoison (Hte-Saône). Couches Kelloway-Oxfordiennes. Partie inférieure des marnes. Bull. Soc. Grayloise Emul. No. 11 p. 165—174. [Foraminifera.]

Degrange, M. (1908): Sur un affleurement de terrain nummulitique dans les environs d'Orthez. Proc.-Verb. Soc Linn. Bordeaux Vol. 62 p. XCIII—XCIV.

Degrange-Touzin (1908): Notes sur les Nummulites du Sud-Ouest de la France. Actes Soc. Linn. Bordeaux Vol. 62 p. 343—353.

Di Stefano, Giov. (1909): I calcari cretacei con Orbitoidi dei dintorni di Termini-Imerese e di Bagheria (Palermo). Giorn. Soc. Sc. nat. econ. Palermo Vol. 26 p. 189—197.

Dobell, C. C. cf. sub Allgemeines.

Doflein, F. (1908): Über den Teilungsvorgang bei den Süßwasserthalamophoren (mit speziellen Angaben über Pyxidicula, Pseudodifflugia und Cochliopodum). Sitz.-Ber. Ges. Morphol. Physiol. München Bd. 23 p. 115—125 6 Fig.

Dollfus, Gustave F. (1908): Faune malacologique du Miocène supérieur (Redonien) de Montaigu (Vendée). C. R. Ass. franç. Av. Sc. Sess. 36 Pt. 1 p. 209; Pt. 2 p. 340-353. [Foraminifera.]

Douvillé, Henri (1907): Les couches à Lépidocyclines dans l'Aquitaine et la Vénétie. Bull. Soc. géol. France (4) T. 7 p. 466—476. [Foraminifera.]

Douvillé, Robert (1908): Observations sur les Faunes à Foraminifères du sommet du Nummulitique italien. Bull. Soc. géol. France (4) T. 8 p. 88—95 1 pl. 10 figs. [2 nn. spp. in Lepidocyclina.]

— (1908): Sur des Foraminifères oligocènes et miocènes de Madagascar. Bull. Soc. géol. France (4) T. 8 p. 321—322.

Egger, Joseph Georg (1908): Microfauna der Kreideschichten des westlichen bayer. Waldes und des Gebietes um Regensburg. 20. Ber. nat. Ver. Passau Beil. 75 pp. 10 Taf. [Foraminifera.]

Fauré-Fremiet, Emmanuel (1905): Contribution à l'étude des protoplasmas; le Cochliopodium pellucidium var. putrinum. Arch. Anat. micr. T. 8 p. 1—68 2 pls. 21 figs.

Felix, Joh. (1908): Studien über die Schichten der oberen Kreideformation in den Alpen und den Mediterrangebieten. Palaeontographica Bd. 54 p. 251—339 2 Taf. 6 Fig. [Foraminifera.]

Fugger, Eberhard (1907): Die Salzburger Ebene und der Untersberg. Jahrb. geol. Reichsanst. Wien Bd. 57 p. 455—528 6 Fig. [Fossile Foraminifera.]

Gauducheau, A. (1908): Formation de corps spirillaires dans une culture d'Amibe. C. R. Soc. Biol. Paris T. 64 p. 493—494. [Entamoeba phagocytoides n. sp.]

Geisendörfer, W. (1909): Beobachtungen an Foraminiferen. Kleinwelt Jahrg. 1 p. 4—7 10 Fig.

Gerould, John H. (1906): Amoeba blattae and Amoeboid Motion. Science N. S. Vol. 23 p. 707—710. ["Fountain currents" observable. Movement in response to unequal surface tension. Theoretical considerations.]

Giard, A. (1907): Les idées de Lamarck sur les Foraminifères. C. R. Soc. Biol. Paris T. 63 p. 774—776.

Gortani, M. (1909): Sui metodi di determinazione delle Fusuline. Atti Soc. tosc. Sc. nat. Proc.-verb. Vol. 18 p. 15—17.

Greene, F. C. (1908): Fauna of the Florena Shale of the Grand Summit Section of Kansas, and Remarks on the Development of Derbya multistriata Meek and Hayden. Proc. Indiana Acad. Sc. 1907 p. 114—127 3 pls. [Foraminifera.]

Gröber, Paul (1908): Über die Faunen des untercarbonischen Transgressionsmeeres des zentralen Tian-schan, die in der Umgebung des Sart-dschol-Passes gefunden worden sind. Neu. Jahrb. Min. Geol. Pal. Beil.-Bd. 26 p. 213—248 6 Taf. 6 Fig. [Foraminifera.]

Hamelin et Morin (1908): Sur un nouveau gite fossilière stampien à Darvault près Nemours (Seine-et-Marne). Bull. Mus. Hist. nat. Paris 1908 p. 75—78. [Foraminifera.]

Hartmann, M. und K. Nägler (1908): Copulation bei Amoeba diploidea n. sp. mit Selbständigbleiben der Gametenkerne während des ganzen Lebenszyclus. Sitz.-Ber. Ges. nat. Freunde Berlin 1908 p. 112—125 2 Taf.

Heim, Arnold (1908): Die Nummuliten- und Flyschbildungen der Schweizeralpen. Versuch zu einer Revision der alpinen Eocän-Stratigraphie. Abh. schweiz. pal. Ges. Vol. 35 Nr. 4 301 p. 8 Taf. 26 Fig. [Orthophragmia kressenbergensis n. sp. (4 nn. varr.) 9 nn. varr. in: Nummulina 6, Assilina 3. Nodocyclina n. subg.

Heron-Allen, Edward (1908): On Cycloloculina, a New Generic Type of the Foraminifera. With a Preliminary Study of the Foraminiferous Deposits and Shore-sands of Selsey Bill. Journ. R. micr. Soc. London 1908 p. 529—543 1 pl. 1 Fig. [2 nn. spp. in: Cycloloculina.]

Heron-Allen, E. and A. Earland (1908): On Cycloloculina. Journ. R. micr. Soc. London 1908 p. 527. [New Generic Type.]

— — (1909): On the Recent and Fossil Foraminifera of the Shore-sands et Selsey Bill, Sussex.-II. Journ. R. micr. Soc. London 1909 p. 306—336 2 pls. [4 nn. spp. in: Cornuspira, Articulina, Bigenerina 2.]

— — (1909): On a New Species of Technitella from the North Sea, with some Observations upon Selective Power as exercised by certain species of Arenaceous Foraminifera. Journ. Quekett micr. Club (2) Vol. 10 p. 403 412 5 pls. [T. thompsoni.]

Hodge, C. F. and O. P. Dellinger (1907): Functions and Structures in Amoeba proteus. (Proc. Amer. Physiol. Soc.) Amer. Journ. Physiol. Vol. 18 p. XI—XII.

Hoogenraad, H. R. (1908): Bemerkungen über einige Süßwasserrhizopoden und -Heliozoen. Ann. Biol. lacustre T. 3 p. 248—258.

Hoyt R. E. (1908): Results of Three Hundred Examinations of Faeces with Reference to the Presence of Amoebae. Philippine Journ. Sc. Vol. 3B. p. 417-420.

Huber (1909): Untersuchungen über Amöbendysenterie. Zeitschr. klin. Med. Bd. 67 p. 262—271 1 Taf. [Auch Flagellaten.]

Issler, Alfred (1908): Beiträge zur Stratigraphie und Microfauna des Lias in Schwaben. Palaeontographia Bd. 55 p. 1—104 7 Taf. 12 Fig. [nn. spp. in: Ophthalmidium, Glandulina, Dentalina, Marginulina (1 n. var.), Cristellaria (2 nn. varr.). 1 n. var. in Frondicularia.]

v. Janicki, C. (1909): Über Kern und Kernteilung bei Entamoeba blattae Bütschli. Biol. Centralbl. Bd. 29 p. 381—393 7 Fig.

Jiménez de Cisneros, Daniel (1906): Excursión al Infracretáceo de Sierra Mediana y de la Alcoraya (provincia de Alicante). Bol. Soc. españ. Hist. nat. T. 6 p. 317—328, 5 Fig. [Foraminifera.]

Kerr, A. F. G. cf. sub Allgemeines.

Kiaer, Hans (1907—08): Om kvartaertidens marine afleiringer ved Tromsø. (With an English Summary). Tromsø Mus. Aarsh. 25 p. 17—44. [Foraminifera.]

— (1907—08): Fortegnelse over Tromsøsundets Foraminiferer. Tromsø Mus. Aarsh. 25 p. 45—48.

Kindle, Edward M. (1908): Occurrence of the Silurian Fauna in Western America. Amer. Journ. Sc. Vol. 25 p. 125—129. [Foraminifera.]

Koken, E. (1907): Indisches Perm und die permische Eiszeit. Neu. Jahrb. Min. Geol. Pal. 1907 Festbd. p. 446—546 1 Taf. [Foraminifera.]

Lemoine, Paul (1907): Contributions à la géologie des Colonies françaises. I. — Sur des fossiles éocènes rapportés du Sénégal par le capitaine Vallier. Bull. Soc. géol. France (4) T. 7 p. 447—451. [Foraminifera.]

Letulle, Maurice (1908): La Botryomycose (Histogenèse. Nature parasitaire). C. R. Soc. Biol. Paris T. 64 p 267—269. [Chez homme et cheval hyperplasie déterminée par amibes parasitaires.]

Leuchs, Kurt (1907): Die geologische Zusammensetzung und Geschichte des Kaisergebirges. Zeitschr. Ferdinandeums Innsbruck (3) Heft 51 p. 51—136 10 Taf. 1 Kart. [Foraminifera.]

Maillieux, Eugène (1908): Note sur un gîte fossilifère frasnien des environs de Frasnes. Bull. Soc. belg. Géol. Pal. T. 22 Proc.-Verb. p. 178—180. [Foraminifera.]

Martelli, Alessandro (1908): Studio geologica sul Montenegro sud-orientale e littoraneo. Mem. Accad. Lincei (5) Vol. 6 p. 553—716 2 tav. 60 figs. [Foraminifera.]

Martelli, A. (1907): La serie eocenica dell'isola di Arbe nel Quarnero. Rend. Accad. Lincei (5) Vol. 16 Sem. 1 p. 371—374. [Foraminifera.]

McClendon, J. F. cf. sub Allgemeines.

Mercier, L. (1908): La schizogonie simple chez Amoeba blattae Bütschli. C. R. Acad. Sc. Paris T. 146 p. 942—945.

Mourlon, Michel (1908): Le Calcaire carbonifère et les dépôts post-primaires qui le recouvrent dans la vallée de l'Escaut, entre Tournai et Antoing. Bull. Soc. belg. Géol. Pal. T. 22 Proc.-Verb. p. 89—105. [Foraminifera.]

Munier-Chalmas (1906): Note sur la zone d'Auvers (Bartonien inférieur). Bull. Soc. géol. France (4) T. 6 p. 503—509. [Foraminifera.]

Nägler, Kurt (1909): Entwicklungsgeschichtliche Studien über Amöben. Arch. Protistenk. Bd. 15 p. 1—53 6 Taf. [4 nn. spp.]

Nelli, Bindo (1906): Il miocene del Monte Titano nella Republica San Marino. Rend. Accad. Lincei (5) Vol. 15 Sem. 2 p. 741—744. [Foraminifera.]

Noc, F. (1909): Recherches sur la dysenterie amibienne en Cochinchine. Ann. Inst. Pasteur T. 23 p. 177—204 4 pls. [Aussi des Flagellés.]

Nopcsa, Franz, jr. (1906): A Gyulafehérvár, Déva, Ruszkabánya és a Romaniai határ köze esö vidék geologiája. Magyar kir. földt. Intèz. Evkön. K. 14 p. 81—253, 1 táb. 82 figs. — Zur Geologie der Gegend zwischen Gyulafehérvár, Déva, Ruszkabánya und der rumänischen Landesgrenze. Mitt. Jahrb. ungar. geol. Anst. Bd. 14 p. 91—279 1 Taf. 82 Fig. [Foraminifera.]

Noszky, Jenö (1906): Adatok a Cserhát geologiájához. Földt. Közlöny Köt. 36 p. 411—417. — Beiträge zur Geologie des Cserhát. p. 463—470. [Foraminifera.]

Paquier, V. (1906): Sur l'Aptien et l'Albien des environs d'Autrans (Vercors septentrional). Bull. Soc. géol. France (4) T. 6 p. 461—472. [Foraminifera.]

Parisch, Clelia (1907): Di alcune Nummuliti e Orbitoidi dell' Appennino ligure — piemontese. Mem. R. Accad. Sc. Torino (2) T. 57 p. 71—95 2 tav. [7 nn. spp. in: Paronaea 5 (5 nn. varr.), Operculina 2 (1 n. var.). 2 nn. varr. in: Gümbelia, Bruguieria.]

Parona, C. F. (1906): Fossili turoniani della Tripolitania. Rend. Accad. Lincei (5) Vol. 15 Sem. 1 p. 160—164. [Foraminifera.]

Pascoe, E. H. (1908): The Wetchok-Yedwet Pagu outcrop, Magwe District, Upper Burma. Rec. geol. Surv. India Suppl. Vol. 36 p. 286—294 3 pls. [Foraminifera.]

Pearcey, F. Gordon (1908): On the Genus Botellina (Carpenter), with a Description of a New Species. Trans. South Afric. philos. Soc. Vol. 17 p. 185—194 1 pl. 1 fig. [R. pinnata n. sp.]

Penard, Eugène (1906): Notes sur quelques Sarcodinés. Rev. Suisse Zool. T. 14 p. 109—141 1 pl. [Placocista glabra n. sp. 1 n. var. in Difflugia.]

— (1907): On the Collection and Preservation of Fresh-water Rhizopods. Journ. Quekett micr. Club (2) Vol. 10 p. 107—116 8 figs. — Note by D. J. Scourfield p. 196–198.

Popescu-Voitesti, J. (1908): Abnormale Erscheinungen bei Nummiliten. Beitr. Pal. Geol. Österr.-Ungarn Bd. 21 p. 211—214 6 Fig.

Ramond, G., Aug. Dollot et Paul Combes jr. (1906): Etude géologique sur le chemin de fer du Nord. Ligne de Paris à Creil, par Chantilly; section de Saint-Denis à la Forêt d'Orry. Bull. Soc. géol. France (4) T. 6 p. 561—575 3 pls. 4 figs. [Foraminifera.]

Ravagli, Maria (1908): Nummuliti oligoceniche di Laverda nel Vicentino. Rend. Accad. Lincei (5) Vol. 17 Sem. 3 p. 500—508 11 figs. [Paronea laverdae n. sp. (2 nn. varr.)]

Reade, T. Mellard (1904): On some Borings at Altcar made by the Lancashire and Yorkshire Railway Company. Proc. Liverpool geol. Soc. Vol. 9 p. 359—369. [Foraminifera determined by Joseph Wright.]

Reagan, Albert B. (1907): Die Fossilien des Höhern Red-Wall-Kalksteins mit denjenigen der Kansas-Kohlenformation verglichen. Centralbl. Min. Geol. Pal. 1907 p. 609—611. [Foraminifera.]

Richardson, G. B. (1908): Paleozoic Formations in Trans-Pecos Texas. Amer. Journ. Sc. Vol 25 p. 474—484. [Foraminifera.]

Richardson, L. (1907): On the Top-beds of the Inferior Oolite at Rodborough Hill, near Stroud. Proc. Cotteswald Nat. Field Club Vol. 16 p. 71—80. [Foraminifera.]

Roth v. Telegd, Ludwig (1906): Der Ostrand des Siebenbürgischen Erzgebirges in der Umgebung von Sárd, Metesd, Ompolypreszáka, Rakató und Gyulafehérvár. (Bericht über die geologische Detailaufnahme im Jahre 1904.) Jahresber. k. ung. geol. Anst. 1904 p. 106—126. [Foraminifera.]

Ruge, Reinhold und Esau (1908): Das Durchwandern der Dysenterie-Amöben durch die Darmwand. Centralbl. Bakt. Parasit. Abt. 1 Orig. Bd. 46 p. 129 2 Taf.

Sacco, Federico (1906): Les étages et les faunes du bassin tertiaire du Piémont. Bull. Soc. géol. France (4) T. 5 p. 893—916 2 pls. [Foraminifera.]

Saundby, Robert and James Miller (1909): A Case of Amoebic Dysentery with Abscess of the Liver in a Patient who had Never Been Out of England. Brit. med. Journ. 1909 Vol. 1 p. 771—773 1 pl.

Schellwien, E. (1908): Monographie der Fusulinen. Teil I: Die Fusulinen des russisch-arktischen Meeresgebietes. Palaeontographica Bd. 55 p. 145—194 8 Taf. [Nach dem Tode des Verfassers herausgegeben und fortgesetzt von Hans v. Staff. 10 nn. spp. 7 nn. varr. in Fusulina.]

Schilling, Cl.: cf. sub Allgemeines.

Schubert, R. J. (1908): Zur Geologie des österreichischen Velebit. Jahrb. geol. Reichsanst. Wien Bd. 58 p. 345—386 1 Taf. 5 Fig. [Nummulostegina n. g. velebitana n. sp.]

Sidebottom, Henry (1908): Report on the Recent Foraminifera from the Coast of the Island of Delos (Grecian Archipelago). Mem. Proc. Manchester liter. philos. Soc. Vol. 52 No. 13 28 p. 5 pls. [4 nn. spp. in: Spirillina 2, Discorbina 2.]

Silvestri, Alfredo (1904): Località Toscana del genera Chapmania Silv. et Prev. Boll. Natural. Siena Anno 24 p. 117—119 1 fig.

— (1906): Nuova forma della Triloculina rotunda D'Orb. Riv. ital. Sc. nat. Anno 26 p. 56—57.

— (1907): Probabile origine d'alcune Orbitoidine. Boll. Natural. Siena Anno 27 p. 11—12.

— (1909): L'Omphalocyclus macropora (Lamck.) a Termini-Imerese (Palermo). Atti pontific. Accad. nuovi Lincei Ann. 61 p. 17—26 3 figs. [Orbitoides schlumbergeri n. sp.]

— (1909): Osservazioni ad uno scritto di G. Roverето. „Sur le Stampien à Lépidocyclines des environs de Varazze". Atti pontific. Accad. nuovi Lincei Ann. 62 p. 17—25 3 Figs.

— (1909): Sulla „Orbitulites complanata" Martelli. Atti pontific. Accad. nuovi Lincei Ann. 61 p. 131—141.

— (1909): Sulla „Orbitoides socialis (Leymerie)". Atti pontific. Accad. nuovi Lincei Ann. 61 p. 94—99.

— (1909): Philippe de la Harpe nella questione delle Lepidocicline. Atti pontific. Accad. nuovi Lincei Ann. 61 p. 171—179.

Spandel, Erich (1909): Der Rupelton des Mainzer Beckens, seine Abteilungen und deren Foraminiferenfauna, sowie einige weitere geologisch-paläontologische

Mitteilungen über das Mainzer Becken. 43.—50. Ber. Offenbach. Ver. Nat. p. 57—230. [19 nn. spp. in: Hyperammina, Saccamina 2, Orbulina, Pseudarcella, Nodosaria, Virgulina, Bolivina 4 (1 n. var.), Uvigerina, Spiroplecta, Gaudryina, Adherentina, Rotalia, Nonionina, Truncatulina, Anomalina. 1 n. var. in Fissurina.]

v. Stafp, Hans (1909): Beiträge zur Kenntnis der Fusuliniden. Neu. Jahrb. Min. Geol. Pal. 1909 Beil.-Bd. 27 p. 461—508 2 Taf. 16 Fig. [Septenbau. Schwagerina yabei n. sp., Verbeekia n. subg.]

— (1908): Zur Entwicklung der Fusuliniden. Centralbl. Min. Geol. Pal. 1908 p. 691—703.

Steuer, A. (1907): Untersuchungen eines Rupelton-Vorkommens in Weinheim an der Bergstraße. Notizbl. Ver. Erdk. großh. geol. Landesanst. Darmstadt (4) Heft 28 p. 95—97 3 Taf. [Foraminiferen.]

Swarczewsky, Boris (1908): Über die Fortpflanzungserscheinungen bei Arcella vulgaris Ehrbg. Arch. Protistenk. Bd. 12 p. 173—212 3 Taf. 5 Fig.

— (1909): Zur Kenntnis der Allogromia ovoidea (Rhumbl.). Arch. Protistenk. Bd. 14 p. 396—416 2 Taf.

Sykes, Mark L. (1905): The Proteus and its Relations. Proc. Manchester Field Club Vol. 1 p. 307—313.

Thomas, J. B. (1905): The Action of Various Chemical Substances upon Cultures of Amoebae. Bur. Govt. Lab. Manila Publ. No. 32 p. 17—29.

Thompson, Beeby (1902—05): The Junction Beds of the Upper Lias and Inferior Oolite in Northamptonshire. Part. II. Stratigraphical and Palaeontological. Journ. Northamptonsh. nat. Hist. Soc. Field Club Vol. 11 p. 197—216, 235—244 1 pl. — Vol. 13 p. 55—56, 93—105. [Foraminifera.]

Toniolo, A. R. (1908): L'eocene dei dintorni di Rozzo in Istria. Rend. Accad. Lincei (5) Vol. 17 Sem. 1 p. 815—824. [Foraminifera.]

von Troll, Oskar (1907): Die pontischen Ablagerungen von Leobersdorf und ihre Fauna. Jahrb. geol. Reichsanst. Wien Bd. 57 p. 33—90 1 Taf. [Foraminifera.]

Vadász, M. Elemér (1907): A Ribicei felsö-Mediterrán korszaki korallpad faunájáról. Földt. Közlöny Köt. 37 p. 368—373. — Über die Obermediterrane Korallenbank von Ribice p. 420—425. [Foraminifera.]

Verrill, Addison E. (1907): The Bermuda Islands. Part IV. — Geology and Paleontology, and Part V. — An Account of the Coral Reefs. Trans. Connecticut Acad. Sc. Vol. 12 p. 45—348 181 figs. [Foraminifera.]

Vogl, Viktor (1907): Adatok a Fóti alsó-Mediterran ismeretéhez. Földt. Közlöny Köt. 37 p. 243—246 3 figs. — Beiträge zur Kenntnis des Untermediterrans von Fót. p. 303—307 3 figs. [Foraminifera.]

Vredenburg, Ernest W. (1908): Occurrence of the genus Orbitolina in India and Persia. Rec. geol. Surv. India Suppl. Vol. 36 p. 314.

— (1908): Nummulites Vredenburgi Prever, nom. mut. Rec. geol. Surv. India Vol. 36 p. 239. [n. nom. pro N. douvillei Vredenburg non Prever.]

— (1908): The Cretaceous Orbitoides of India. Rec. geol. Surv. India Vol. 36 p. 171—213. [O. hollandi n. sp.]

Woolley, Paul G. (1905): The Pathology of Intestinal Amoebiasis. Bur. Govt. Lab. Manila Publ. No. 32 p. 31—47 19 pls.

Young George William (1908): The Chalk Area of Western Surrey. Proc. Geol. Ass. London Vol. 20 p. 422—455. [Foraminifera.]

ZARNIK, B. (1907): Über eine neue Ordnung der Protozoen. Sitz.-Ber. physik. med. Ges. Würzburg 1907 p. 72—78 1 Fig. [Gromia solenopus n. sp.]

II. Subkl.: ***Heliozoa.***

BOISSEVAIN, MARIA (1908): Über Kernverhältnisse von Actinosphaerium eichhorni bei fortgesetzter Kultur. Arch. Protistenk. Bd. 13 p. 167—194 4 Taf.

DISTASO, ARCANGELO (1908): Sui processi vegetativi e sull' incistidamento di Actinophrys sol. Arch. Protistenk. Bd. 12 p. 277—312 2 Taf. 10 fig.

HOOGENRAAD, H. R.: cf. sub Rhizopoda.

MACKINNON, DORIS L. (1908): A Few Observations on the Encystation of Actinosphaerium eichhorni under Different Conditions of Temperature. Quart. Journ. micr. Sc. Vol. 52 p. 407—422 1 pl. 1 fig. [Influence of temperature on cell function.]

SCHRÖDER, OLAW (1908): Sticholonche zanclea (R. HERTWIG) und Wagnerella borealis (MERESCHKOWSKY). Deutsch. Südpol. Exped. Bd. 10 Zool. Bd. 2 p. 317—322 4 Fig.

ZUELZER, MARGARETE (1908): Bau und Entwicklung von Wagnerella borealis M. Sitz.-Ber. Ges. nat. Freunde Berlin 1908 p. 151—156 1 Taf.

III. Subkl.: ***Radiolaria.***

BORGERT, A. (1909): Untersuchungen über die Fortpflanzung der tripyleen Radiolarien, speziell von Aulacantha scolymantha H. Arch. Protistenk. Bd. 14 p. 134—263 7 Taf. 21 Fig.

HAECKER, VALENTIN (1908): Tiefsee-Radiolarien. Erster Abschnitt. Spezieller Teil. Zweite Hälfte. Aulacanthidae-Concharidae. Wiss. Ergebn. deutsch. Tiefsee-Exped. Valdivia Bd. 14 p. 337—476 23 Taf. 62 Fig. [39 nn. spp. in: Coelodiceras n. g. 2, Coelechinus n. g., Coelotetraceras n. g., Coelodrymus, Coelothyrsus n. g., Coelographis 5, Coelodecas 4, Coelanthemum n. g., Astracantha 4, Thalassothamnus n. g. 4, Cytocladus, Acanthosphaera, Hexacromyum, Xiphostylus, Heliodiscus Triceraspyris, Saccospyris n. g., Acanthocyrtidium, Craterocyclas n. g, Lamprocyclas 2, Hexalodus n. g., Cindopyramis, Halocella 2. Thalassothamnidae n. fam.]

— (1908): Tiefsee-Radiolarien. Allgemeiner Teil. Form und Formbildung bei den Radiolarien. Wiss. Ergebn. deutsch. Tiefsee-Exped. Valdivia Bd. 14 p. 477 706 2 Taf. 123 Fig. 2 Kart.

— (1909): Über die Chromosomenbildung der Aulacanthiden. Zur Kritik der Hypothese von der Parallelconjugation. Zool. Anz. Bd. 34 p. 35—42 6 Fig.

MOROFF, THEODOR und GUSTAV STIASNY (1908): Über den Bau und die Fortpflanzung von Acanthometra. Zentralbl. Physiol. Bd. 22 p. 598—601 2 Fig. [Die bisher als Einzeltiere betrachteten Acanthometra sind Kolonien, welche ihre Vermehrung innerhalb der Centralkapsel durchmachen.]

POPOFSKY, A. (1908): Die Radiolarien der Antarktis (mit Ausnahme der Tripyleen). Deutsch. Südpol.-Exped. Bd. 10 Zool. Bd. 2 p. 185-305 17 Taf. 29 Fig. [48 nn. spp. in: Thalassothamnus, Cenosphaera, Hexalonche 2, Acanthosphaera 2, Cladococcus (2 nn. varr.), Actinomma 2, Lonchosphaera n. g., Druppocarpus, Diplellipsis n. g., Triodiscus, Spongotrochus (1 n. var.), Lithelius 2, Lithacanthus n. g. 2, Tetracanthus n. g., Plectophora, Tetraplecta, Dumetum n. g., Semantis 2. Semantiscus, Tripospyris 2, Peridium 3,

Mitrocalpis, Dictyophimus, Lithomelissa 3 (1 n. var.), Helotholus 2 (1 n. var.), Psilomelissa, Bisphaerocephalus n. g., Sethoconus, Sethocephalus, Pterocorys, Corocalyptra, Stichopilium, Dictyomitra 2, Poroamphora n. g., Lithamphora n. g., Lithomitra. 3 nn. varr. in: Rhizoplegma, Spongodiscus, Acanthonia. Lithacanthidae n. fam.]

Schmidt, Wilhelm, J. (1908): Die tripyleen Radiolarien der Plankton-Expedition. Castanellidae. Ergebn. Plankton-Exped. Bd. 3 L. h. 6 p. 233—277 4 Taf. [4 nn. spp. in: Castanidium 2, Castanissa 2.]

Schröder: cf. sub Heliozoa.

Stiasny, Gustav (1908): Einige Beobachtungen über Sticholonche zanclea Hertw. Zool. Anz. Bd. 33 p. 440—445.

Wolfenden, R. Norris (1905): Biscayan Plankton Collected during a Cruise of H. M. S. 'Research' 1900 Part VI. — The Colloid Radiolaria. Trans. Linn. Soc. London (2) Zool. Vol. 10 p. 131—133. Note to the Foregoing. By G. Herbert Fowler p. 133—135.

Zacharias, Otto (1906): Eine neue Dyctyochide aus dem Mittelmeer: Hermesinum adriaticum n. g., n. sp. Arch. Hydrobiol. Planktonk. Bd. 1 p. 394—398 4 Fig.

II. Kl.: *Mastigophora.*

I. Subkl.: *Euflagellata.*

[Hierbei die Literatur über Trypanosomen-Krankheiten.]

Alexeieff, A. (1908): Sur la division de Hexamitus intestinalis Dujardin. C. R. Soc. Biol. Paris T. 65 p. 402—404 7 figs.

Apelt, F. (1908): Untersuchungsergebnisse am Liquor von mit Trypanosomen infizierten Hunden. (Gemeinsam mit Dr. Spielmeyer.) (2. Jahresvers. Ges. deutsch. Nervenärzte Heidelberg.) Neurol. Centralbl. Jahrg. 27 p. 1005—1006. — Deutsch. Zeitschr. Nervenheilk. Bd. 36 p. 85—86.

Baldrey, F. S. H. (1909): Versuche und Beobachtungen über die Entwicklung von Trypanosoma lewisi in der Rattenlaus Haematopinus spinulosus. Arch. Protistenk. Bd. 15 p. 326—332 2 Fig.

Bancroft, Frank W. (1907): The Mechanism of the Galvanotropic Orientation in Volvox. Journ. exper. Zool. Vol. 4 p. 157—163.

Battaglia, Mario (1908): Einige Untersuchungen über das Nagana-Trypanosoma. (Vorläufige Mitteilung.) Centralbl. Bakt. Parasit. Abt. 1 Orig. Bd. 47 p. 350—351.

— (1909): Sporulärer und asporulärer Cyklus des Trypanosoma Nagana. Centralbl. Bakt. Parasit. Abt. 1 Orig. Bd. 49 p. 326—331.

Bensen, W. (1908): Bau und Arten der Gattung Lamblia. Zeitschr. Hyg. Infektionskrankh. Bd. 61 p. 109—114 6 Fig.

Berliner, Ernst (1909): Flagellaten-Studien. Arch. Protistenk. Bd. 15 p. 297—325 2 Taf. [Copromonas major n. sp.]

Bettencourt, A. et C. França (1906): Sur un Trypanosome du Blaireau (Meles taxus Schr.). Arch. Inst. bacter. Camara Pestana Lisbonne T. 1 p. 73—75 1 pl. [Tr. pestanai n. sp.]

— (1906): Note sur l'existence du Trypanosoma cuniculi en Portugal. Arch. Inst. bacter. Camara Pestana Lisbonne T. 1 p 167—169.

— (1906): Sur un Trypanosome de la Chauve-souris. Arch. Inst. bacter. Camara Pestana Lisbonne T. 1 p. 187—194 1 pl.

Bettencourt, A. et C. França (1907): Note sur les Trypanosomes des Oiseaux du Portugal. Arch. Inst. bacter. Camara Pestana Lisbonne T. 1 p. 333—336.

Bohne, A. und S. v. Prowazek (1908): Zur Frage der Flagellatendysenterie. Arch. Protistenk. Bd. 12 p. 1—8 1 Taf. 3 Fig.

Bouet, G. (1909): Sur quelques trypanosomes des Vertébrés à sang froid de l'Afrique occidentale française. C. R. Soc. Biol. Paris T. 66 p. 609—611. [5 nn. spp.]

Boyce, Rubert and Anton Breinl (1908): Atoxyl and Trypanosomiasis. Ann. trop. Med. Parasit. Vol. 2 p. 1—32.

Breinl, Anton (1909): Experiments on the Combined Atoxyl-Mercury Treatment in Monkeys Infected with Trypanosoma gambiense. Ann. trop. Med. Parasit. Liverpool Vol. 2 p. 345—352.

Breinl, A. und M. Nierenstein (1908): Weitere Beobachtungen über Atoxylfestigkeit der Trypanosomen. Deutsch. med. Wochenschr. Jahrg. 34 p. 1181—1182.

Broden, A. (1906): Trypanosomiases animales au Congo. Communication préliminaire. Bull. Acad. Méd. Belgique (4) T. 20 p. 387—416 1 pl. 13 figs.

Bruce, David (1908): Fly Fever in Africa. Nature Vol. 78 p. 413—414.

Bruce, David and H. R. Bateman (1908): Have Trypanosomes an Ultra-microscopical Stage in their Life-History? Proc. R. Soc. London Vol. 80 B p. 394—397. [No ultra-microscopical forms of T. brucei.]

Bruce, David, A. E. Hamerton and H. R. Bateman (1909): A Trypanosome from Zanzibar. Proc. R. Soc. London Vol. 81 B p. 14—30 2 pls.

Brumpt, E. (1908): Guérison de la maladie du sommeil chez le Lérot vulgaire en hibernation. Action du froid sur le Trypanosoma inopinatum „in vivo". C. R. Soc. Biol. Paris T. 64 p. 1147—1149. [Destruction phagocytaire des Parasites dépasse reproduction des Tryp. à basse température, d'où guérison de l'animal.]

Byloff, Karl (1907): Studien über Trypanozoon lewisi und brucei. Anz. Akad. Wiss. Wien math.-nat. Kl. Jahrg. 44 p. 85. — Sitz.-Ber. Akad. Wiss. Wien Bd. 116 Abt. 3 p. 27—88 3 Taf. 2 Fig.

van Campenhout, E. (1907): Traitement de la maladie du sommeil à la dernière période. Bull. Acad. Méd. Belgique (4) T. 21 p. 93—106 8 figs.

Claude, Henry et Maurice Renaud (1908): Remarques sur les lésions des tissus de quelques chiens infectés par le Trypanosome de la Dourine. C. R. Ass. franç. Av. Sc. Sess. 36 Pt. 1 p. 318—319; Pt. 2 p. 1069—1072.

Cockerell, T. D. A.: cf. sub Allgemeines.

Cohnheim, P.: cf. sub Ciliata.

Dausel, P. (1909): Beitrag zur Kasuistik der „Dourine" (Beschälseuche). Zeitschr. Infektionskr. parasit. Krankh. Hyg. Haustiere Bd. 5 p. 448—452 3 Fig. [Trypanosoma rougeti.]

De Nobele, J. et Oswald Goebel (1905): Action des rayons de Roentgen et du radium sur les trypanosomes de la Nagana. Ann. Soc. Méd. Gand Vol. 85 p. 216—218.

— — (1906): Essais de radiothérapie dans les trypanosomiases expérimentales. Ann. Soc. Méd. Gand Vol. 86 p. 52—59. [Sans action.]

Dobell, C. C. cf. sub Allgemeines.

— (1908): Some Remarks upon the "Autogamy" of Bodo lacertae (Grassi). Biol. Centralbl. Bd. 28 p. 548—555 7 Fig.

Dobell, C. C. (1909): The "Autogamy" of Bodo lacertae. A reply to Dr. Prowazek. Biol. Centralbl. Bd. 29 p. 363—364.

Doflein, F. (1909): Probleme der Protistenkunde. I. Die Trypanosomen, ihre Bedeutung für Zoologie, Medizin und Kolonialwirtschaft. Jena, Gustav Fischer, 8° 57 p. 22 Fig. Mk. 1.20.

— (1909): Die Trypanosomen, ihre Bedeutung für Zoologie, Medizin und Kolonialwirtschaft. Verh. Ges. deutsch. Nat. Ärzte 80. Vers. Teil 1 p. 138—155.

Durham, H. E. cf. sub Haemosporidia.

Dutton, J. Everett, John L. Todd and Allan Kinghorn (1907): Cattle Trypanosomiasis in the Congo Free State. Ann. trop. Med. Parasit. Vol. 1 p. 231—271 3 pls. 4 figs.

Dutton, J. E., J. L. Todd and E. N. Tobey cf. sub Allgemeines.

Edington, Alexander (1908): Preliminary Note on the Occurrence of a New Variety of Trypanosomiasis on the Island of Zanzibar. Proc. R. Soc. London Vol. 80 B p. 545—549.

Ehrlich, P. (1907): Estudos chimico-therapeuticos sobre os trypanosomas. Arch. Hyg. Pathol. exot. Lisboa Vol. 1 p. 350—389.

Fiebiger, J. cf. sub Allgemeines.

Firket, Ch. (1909): Notes statistiques sur le rôle de "Glossina palpalis" et de "Glossina morsitans" dans la propagation de la maladie du sommeil, d'après les observations du docteur Pearson. Bull. Acad. Méd. Belgique (4) T. 23 p. 83—87, 1 pl.

Flu, P. C. (1908): Über die Flagellaten im Darm von Melophagus ovinus. Arch. Protistenk. Bd. 12 p. 147—153 1 Taf. [Crithidia melophagia n. sp.]

Fraenkel, C. (1909): Beobachtungen an Crithidia fasciculata. Hyg. Rundsch. Jahrg. 19 p. 57—58. [C. fasciculata entbehrt der undulierenden Membran, ist daher nicht zu Trypanosomen zu stellen, sondern mit Hämoproteus zu einer selbständigen Flagellatengruppe zu vereinigen.]

França, Carlos (1908): Encore sur le Trypanosome de Hyla arborea. Arch. Inst. bacter. Camara Pestana Lisboa T. 2 p. 271—272. [T. hylae n. sp.]

França, Carlos et Marck Athias (1906): Lesions histologiques dans la maladie du sommeil. Arch. Hyg. Pathol. exot. Lisboa Vol. 1 p. 215—217. [Infiltration des parois vasculaires du cerveau par „Plasmazellen".]

— — (1906—07): Recherches sur les Trypanosomes des Amphibiens. I. Les Trypanosomes de la Rana esculenta. Arch. Inst. bacter. Camara Pestana Lisbonne T. 1 p. 127—165 2 pls. 25 figs. [Trypanosoma undulans et elegans nn. spp.] — II. Les Trypanosomes de Hyla arborea p. 289—309 2 pls.

Frank, G. und P. Frosch (1909): Über die Bedeutung des Befundes rinderpathogener Trypanosomen in Deutschland. Zeitschr. Infektionskrankh., parasit. Krankh. Hyg. Haustiere Bd. 5 p. 330—334.

Friedberger, E. (1908): Über die Behandlung der experimentellen Nagana mit Mischungen von Atoxyl und Thioglykolsäure. Berlin. klin. Wochenschr. Jahrg. 45 p. 1714—1717.

Friedrich, Ludwig (1909): Über Bau und Naturgeschichte des Trypanoplasma helicis Leidy. Arch. f. Protistenk. Bd. 14 p. 363—395 48 Fig.

Frosch, P. (1909): Ätiologische Ermittelungen über das Trypanosoma Frank. Zeitschr. Infektionskrankh., parasit. Krankh. Hyg. Haustiere Bd. 5 p. 316—329 4 Taf. [Erster erkannter Fall einer in Deutschland vorkommenden Trypanosomenkrankheit des Rindviehes.]

Giard, A. (1907): Au sujet d'une Mission d'études de la maladie du sommeil. Bull. Soc. entom. France 1907 p. 11—12.

Goebel, Oswald (1905): Action du venin de Cobra sur les trypanosomes. Ann. Soc. Méd. Gand Vol. 85 p. 148—151.

— (1906): Sur les propriétés osmotiques des Trypanosomes. Ann. Soc. Méd. Gand Vol. 86 p. 13—20.

Gonder, R. und H. Sieber (1909): Experimentelle Untersuchungen über Trypanosomen. Centralbl. Bakt. Parasit. Abt. 1 Orig. Bd. 49 p. 321—325 1 Taf.

Hollebeke, Léon (1907): Traitement de la trypanosomiase par l'atoxyl. Notes cliniques et thérapeutiques. Bull. Acad. Méd. Belgique (4) T. 21 p. 339 —368.

Huber cf. sub Rhizopoda.

Igersheimer (1908): Experimentelle Studien über die Wirkung des Atoxyls auf das Auge. (35. Vers. deutsch. ophthalm. Ges. Heidelberg.) Klin. Monatsbl. Augenheilk. N. F. Bd. 6 p. 220—221.

Jacoby, Martin und Albert Schütze (1908): Über den Wirkungsmechanismus von Arsenpräparaten auf Trypanosomen im tierischen Organismus. Biochem. Zeitschr. Bd. 12 p. 193—203. [Nicht gelungen weder Leukocyten noch Erythrocyten zur Aufnahme von Naganatrypanosomen zu veranlassen. Direkte Vernichtung der Trypanosomen durch therapeutisch in Frage kommende As-mengen ist möglich.]

Janicki, Constantino e B. Grassi (1908): Contribuzione alla conoscenza di alcuni protozoi parassiti della Periplaneta orientalis. (Lophomonas blattarum Stein, L. striata Bütschli, Amoeba blattae Bütschli.) Rend. Accad. Lincei (5) Vol. 17 Sem. 2 p. 140—151.

Johnston, T. Arnold (1908): A Case of Sleeping Sickness Treated with Atoxyl; Apparent Recovery. Lancet Vol. 175 p. 867—869.

Kashyop, Shiv Ram. (1908): Notes on a peculiar form of Euglena. Rec. Indian Mus. Vol. 2 p. 111—112.

Kerr, A. F. G. cf. sub Allgemeines.

Kleine (1909): Positive Infektionsversuche mit Trypanosoma brucei durch Glossina palpalis. Deutsch. med. Wochenschr. Jahrg. 35 p. 469—470.

Knuth, P. (1909): Über die Morphologie des Trypanosoma Frank. Zeitschr. Infektionskr. parasit. Krankh. Hyg. Haustiere Bd. 6 p. 39—45 1 Fig.

Kopke, Ayres (1906): Trypanosomiasis humaine. Arch. Hyg. Pathol. exot. Lisboa Vol. 1 p. 159—188.

— (1907): Traitement de la maladie du sommeil. Med. contemp. Lisboa (6) T. 10 p. 2—4.

— (1907): Traitement de la maladie du sommeil. Arch. Hyg. Pathol. exot. Lisboa Vol. 1 p. 299—347 1 est.

— (1907): Traitement de la maladie du sommeil. Rapport présenté au XIVe Congrès International d'Hygiène et Démographie. Lisbonne, Imprimerie Nationale 8° 51 p.

Kunstler, J. (1908): L'origine des Hémoflagellés du sang des Vertébrés. C. R. Soc. Biol. Paris T. 65 p. 30.

Kutscher, K. H. (1907): Über die afrikanische Schlafkrankheit nach den neuesten Mitteilungen R. Koch's. Berlin. klin. Wochenschr. Jahrg. 44 p. 26—27.

Laveran, A. (1908): Contribution à l'étude de Trypanosoma congolense. Ann. Inst. Pasteur T. 22 p. 833—855 3 figs.

Laveran, A. (1908): De l'emploi de l'émétique dans le traitement des trypanosomiases. C. R. Acad. Sc. Paris T. 147 p. 510—514.

— (1908): Au sujet de Trypanosoma congolense (Broden). C. R. Acad. Sc. Paris T. 147 p. 45?—455. [Tr. congolense et Tr. dimorphon constituent deux espèces distinctes. (Caprins ayant acquis immunité pour Tr. congolense, s'infectent par Tr. dimorphon.)]

— (1908): Au sujet de Trypanosoma congolense (Broden). C. R. Acad. Sc. Paris T. 146 p. 853—856.

Leber, A. (1908): Über Trypanosomentoxine und trypanotoxische Keratitis parenchymatosa. Deutsch. med. Wochenschr. Jahrg. 34 p. 1850—1851.

Lemmermann, E. (1906): Über das Vorkommen von Süßwasserformen im Phytoplankton des Meeres. Arch. Hydrobiol. Planktonk. Bd. 1 p. 409—427.

Levaditi, C. (1909): Mécanisme d'action des composés arsénicaux dans les Trypanosomiases. C. R. Soc. Biol. Paris T. 66 p. 33—35.

Levaditi, C., E. Brimont et T. Yamanouchi (1908): Action du trypanotoxyl sur les races de surra résistantes à l'atoxyl. C. R. Soc. Biol. Paris T. 65 p. 25—26.

Levaditi, C. et T. Yamanouchi (1908): Mécanisme d'action de l'atoxyl dans les trypanosomiases. C. R. Soc. Biol. Paris T. 65 p. 23—25. [Foie, poumon et muscles transforment atoxyl en substance trypanolytique: Trypanotoxyl.]

MacNalty, A. Salusbury (1905): Trypanosomiasis and Sleeping Sickness. Trans. Oxford Univ. jun. scient. Club N. S. Vol. 1 p. 449—463.

de Magalhães, José (1906): Troubles cérébelleux et bulbaires dans la maladie du sommeil. Arch. Hyg. Pathol. exot. Lisboa Vol. 1 p. 194—199.

— (1906): Étude au point de vue thérapeutique de la perméabilité méningée dans la trypanosomiase humaine. Arch. Hyg. Pathol. exot. Lisboa Vol. 1 p. 189—193.

Manson, Patrick (1908): My Experience of Trypanosomiasis in Europeans and its Treatment by Atoxyl and other Drugs. Ann. trop. Med. Parasit. Vol. 2 p. 33—51.

Marshall, D. G. (1905): Notes on Tropical Diseases. Edinburgh med. Journ. Vol. 60 p. 44—48.

Martin, Gustave et Leboeuf (1908): Diagnostic microscopique de la trypanosomiase humaine Ann. Inst. Pasteur T. 22 p. 518—540.

Mast, S. O. cf. sub Allgemeines.

— (1907): Light Reactions in Lower Organisms. II. Volvox Globator. Journ. comp. Neurol. Vol. 17 p. 99—180 15 figs.

Mastbaum, Hugo (1907): Recherche de l'atoxyl dans le liquide céphalo-rachidien des malades atteints de trypanosomiase. Arch. Hyg. Pathol. exot. Lisboa Vol. 1 p. 348—349.

Mayer, Martin (1909): Über Trypanosoma theileri und diesem verwandte Rindertrypanosomen. Zeitschr. Infektionskr. parasit. Krankh. Hyg. Haustiere Bd. 6 p. 46—51 1 Taf.

Mendes, Annibal Correia, Alfredo Silva Monteiro, Antonio Damas Mora e Bernardo Francisco Bruto da Costa (1909): Relatorio preliminar da Missão de estudo da Doença do somno na Ilha do Principe. Arch. Med. Lisboa Vol. 2 p. 1—64 6 mapp. 3 figs.

Merlin, A. A. C. Eliot (1907): Note on a New (?) Flagellated Monad. Journ. Quekett micr. Club (2) Vol. 10 p. 204—206 1 fig.

MESNIL, F. et E. BRIMONT (1908): Sur une race de trypanosomes résistante à l'émétique et sur l'évaluation in vitro de sa résistance. C. R. Soc. Biol. Paris T. 64 p. 820—823.

— — (1908): Sur les propriétés des races de trypanosomes, résistantes à l'atoxyl et aux sérums. C. R. Soc. Biol. Paris T. 64 p. 637—640.

— — (1908): Sur les propriétés des races de Trypanosomes résistantes aux médicaments. Ann. Inst. Pasteur T. 22 p. 856—875.

— — (1908): Sur les propriétés préventives du sérum des animaux trypanosomiés. C. R. Soc. Biol. Paris T. 65 p. 77—80.

— — cf. sub Haemosporidia.

METTAM, A. E. (1907): On the Presence of a Trypanosome in an Irish Bat. Dublin. Journ. med. Sc. Vol. 124 p. 417—419 1 pl.

MEZINESCU, D. cf. sub Haemosporidia.

MINCHIN, E. A. (1908): Note on the Polymorphism of Trypanosoma gambiense. Parasitology Vol. 1 p. 236—237 1 pl.

— (1909): Exhibition of a number of preparations of blood parasites — Trypanosomes and Trypanoplasms — of fresh-water fish from the Norfolk Broads. Journ. Quekett micr. Club (2) Vol. 10 p. 418—420.

— (1909): Observations on the Flagellates Parasitic in the Blood of Freshwater Fishes. Proc. zool. Soc. London 1909 p. 2—31 5 pls. [Trypanoplasma gurneyorum n. sp.]

— (1909): Crocodiles and Tsetse-flies. Nature Vol. 79 p. 458.

MÖLLER, B. (1909): Beitrag zur Epidemiologie der Trypanosomenkrankheiten. Experimentelle Übertragungsversuche von Tsetsetrypanosomen durch den Zeugungsakt und durch Ungeziefer (Insekten und Zecken). Zeitschr. Hyg. Infektionskrankh. Bd. 62 p. 425—432. [Blutsaugende Insekten und Zecken spielen bei der Übertragung und Ausbreitung der Trypanosomiasis keine Rolle.]

MONTGOMERY, R. EUSTACE and ALLAN KINGHORN (1908): Report on Trypanosomiasis of Domestic Stock in North-Western Rhodesia. Ann. trop. Med. Parasit Vol. 2 p. 97—132 5 pls.

— (1909): On the Nomenclature of the Mammalian Trypanosomes observed in North Western Rhodesia. Ann. trop. Med. Parasit. Liverpool Vol. 2 p. 333—344.

— (1909): Gland Puncture in the Diagnosis of Animal Trypanosomiasis. Ann. trop. Med. Parasit. Liverpool Vol. 2 p. 387—390. [T. nanum.]

MOORE, BENJAMIN, M. NIERENSTEIN and JOHN L. TODD (1907): A Note on the Therapeutics of Trypanosomiasis. Ann. trop. Med. Parasit. Vol. 1 p. 161.

— (1907): Concerning the Treatment of Experimental Trypanosomiasis. Ann. trop. Med. Parasit. Vol. 1 p. 275—284.

— (1908): Notes on the Effects of Therapeutic Agents on Trypanosomes in Respect to (a) Acquired Resistance of the Parasites to the Drug, and (b) Changes in Virulence of the Strains after Escape from the Drug. Ann. trop. Med. Parasit. Vol. 2 p. 221—231.

— (1909): Concerning the Treatment of Experimental Trypanosomiasis. Part II. Ann. trop. Med. Parasit. Vol. 2 p. 265—288 1 pl.

MORAX, V. (1908): Manifestations oculaires dans la trypanosomiase humaine. Ann. Ocul. Paris T. 140 p. 39—45.

MÜHLENS, P. (1908): Die Schlafkrankheit und ihre Behandlung. Verh. Ges. deutsch. Nat. Ärzte Vers. 79 T. 2 Hälfte 2 p. 544—546.

Mühlens, P.: cf. sub Spirochäten.

Nattan-Larrier, M. (1908): Maladie du sommeil à forme médullaire avec troubles mentaux (Soc. méd. Hopitaux). Semaine méd. Ann. 28 p. 335.

Nierenstein, M. (1908): Comparative Chemo-therapeutical Study of Atoxyl and Trypanocides. Part I. Ann. trop. Med. Parasit. Vol. 2 p. 249—255.

— (1909): Comparative Chemo-therapeutical Study of Atoxyl and Trypanocides. Part II. Ann. trop. Med. Parasit. Vol. 2 p. 323—327.

Noc, F.: cf. sub Rhizopoda.

Nuttall, George H. F. (1908): The Transmission of Trypanosoma lewisi by Fleas and Lice. Parasitology Vol. 1 p. 296—301. [Experiments demonstrate that Trypanosoma lewisi is transmitted from rat by means of fleas (Ceratophyllus fasciatus, Ctenophthalmus agyrtis) and lice (Haematopinus spinulosus).]

Ottolenghi, D. (1907): Contributo alla conoscenza del Trypanosoma Brucei. Monit. zool. ital. Ann. 18 p. 182—187, 2 fig. [Generazione sessuata nei mammiferi.]

— (1908): Nuove ricerche sul Trypanosoma Brucei e sul Trypanosoma equinum. Monit. zool. ital. Ann. 19 p. 29—38, 1 tav.

— (1908): Untersuchungen über Trypanosoma Brucei und über Tr. equinum. Centralbl. Bakt. Parasit. Abt. 1 Orig. Bd. 47 p. 473—483, 19 Fig.

Patton, W. S. (1908): Inoculation of Dogs with the Parasite of Kala-azar (Herpetomonas [Leishmania] donovani) with some Remarks on the Genus Herpetomonas. Parasitology Vol. 1 p. 311—313.

— (1908): The Life Cycle of a species of Crithidia parasitic in the Intestinal Tract of Gerris fossarum Fabr. Arch. Protistenkunde Bd. 12 p. 131—146, 1 Taf. [C. gerridis n. sp.].

— (1908): Herpetomonas lygaei. Arch. Protistenkunde Bd. 13 p. 1—18, 1 Taf., 2 Fig. [n. sp.].

— (1909): The Life cycle of a Species of Crithidia Parasitic in the Intestinal Tracts of Tabanus hilarius and Tabanus sp.? Arch. Protistenkunde Bd. 15 p. 333—362, 1 pl., 2 Fig.

— (1909): The Parasite of Kala Azar and Allied Organisms. (Soc. trop. Med. Hyg.) Lancet Vol. 176 p. 306—309, 25 figs. — p. 321.

— and C. Strickland (1908): A Critical Review of the Relatism of Bloodsucking Invertebrates to the Life Cycles of the Trypanosomes of Vertebrates, with a Note on the Occurrence of a Species of Crithidia, C. ctenopthalmi, in the Alimentary Tract of Ctenopthalmus agyrtes, Heller. Parasitology Vol. 1 p. 322—346.

Pearl, Raymond (1906): Variation in Chilomonas under favorable and unfavorable conditions. Biometrika Vol. 5 p. 53—72.

Plimmer, H. G., and H. R. Bateman (1908): Further Results of the Experimental Treatment of Trypanosomiasis: being a Progress Report to a Committee of the Royal Society. Proc. R Soc. London Vol. 80 B p. 477—487.

Powers, J. H. (1908): Further Studies in Volvox, with Descriptions of Three New Species. Trans. Amer. micr. Soc. Vol. 28 p. 141—176, 4 pls. (Stud. zool. Lab. Univ. Nebraska Nr. 85.) [3 nn. spp.]

Prowazek, S. (1905): The Development of Herpetomonas, a Flagellate Related to the Trypanosoma. Journ. trop. Med. Vol. 8 p. 5—7, 24—28, 7 figs.

Prowazek, S. (1907): Bemerkung zu dem Aufsatz „Beiträge zur Kenntnis der Flagellaten“ von Awerinzew. Zool. Anzeiger Bd. XXXI No. 25. Zool. Anz. Bd. 32 p. 380—381, 3 Fig. [Kernmembran].

— (1908): Einfluß von Säurelösungen niedrigster Konzentration auf die Zell- und Kernteilung. Arch. Entw.-Mech. Bd. 25 p. 643—647, 4 Fig.

Prowazek, S. (1909): Zysten von Bodo lacertae. Entgegnung zu dem Artikel: „Some Remarks upon the „Autogamy“ of Bodo lacertae (Grassi)“ von C. Dobell d. Zeitschrift XXVIII. Bd., p. 548. Biol. Centralbl. Bd. 29 p. 27—29.

Reille (1908): La maladie du sommeil. Ann. Hyg. publ. (4) T. 9 p. 157—170.

Rennes, J. (1908): Recherches sur une maladie à trypanosomes des Equidés de l'Afrique du Nord. Rapport par Laveran. C. R. Acad. Sc. Paris T. 147 p. 1162—1163.

Ribbing, S. (1906): Om trypanosoma-sjukdomarna, en orienterande öfversikt. Acta Univ. Lund. N. F. Afd. 2 Bd. 3 (K. fisiogr. Sällsk. Handl. N. F. Bd. 18 No. 1) No. 1, 38 pp.

Robertson, Muriel (1906): Notes on certain Parasitic Protozoa from the Groups of the Myxosporidia and Haemosporidia. Proc. R. philos. Soc. Glasgow Vol. 37 p. 74—79, 1 pl. [Trypanosoma pythonis, pleuronectidum nn. spp.]

Robertson, M.: cf. sub Allgemeines.

Rosenbusch, F. (1909): Trypanosomen-Studien. Arch. Protistenkunde Bd. 15 p. 263—296, 3 Taf.

Roubaud, E. (1908): Résultats actuels des recherches biologiques, effectués au laboratoire de la mission d'étude de la maladie du sommeil de Brazzaville, et leur application à la prophylaxie. Bull. Mus. Hist. nat. Paris 1908 p. 210—214.

— (1908): Sur un nouveau flagellé, parasite de l'intestin des Muscides, au Congo français. C. R. Soc. Biol. Paris T. 64 p. 1106—1108, 11 figs. [Leptonomas mirabilis n. sp.]

Sabrazès, J. et L. Muratet (1908): Présence d'un „Cercomonas“ dans un épithélioma suppuré de la face. Actes Soc. Linn. Bordeaux Vol. 62 p. 419—420.

—, — (1908): Flagellés de l'intestin du cheval et de l'âne. Actes Soc. Linn. Bordeaux Vol. 62 p. 411—413, 2 figs. [2 nn. varr. in Dimastigamoeba.]

—, — (1908): Trypanosome de la Torpille. (Torpedo marmorata Risso). Proc.-Verb. Soc. Linn. Bordeaux Vol. 62 p. CXVII—CXXI. [T. torpedinis n. sp.]

Salvin-Moore, J. E. and Anton Breinl (1907): The Cytology of the Trypanosomes. Part I. Ann. trop. Med. Parasit. Vol. 1 p. 439—480, 5 pls., 1 fig.

Salvin-Moore, J. E., Anton Breinl and Edward Hindle (1908): The Life History of Trypanosoma lewisi. Ann. trop. Med. Parasit. Vol. 2 p. 197—214, 5 pls.

Schilling, Cl. cf. sub Allgemeines.

Schorler, B. (1907): Beitrag zur Lebensgeschichte der Mallomonas-Arten und zur komplementären Anpassung. Arch. Hydrobiol. Planktonkunde Bd. 3 p. 100—106.

Sieber: cf. sub Allgemeines.

Swellengrebel, N. H. (1908): La volutine chez les Trypanosomes. C. R. Soc. Biol. Paris T. 64 p. 38—40 6 figs.

Swingle, Leroy D. (1909): A Study on the Life History of a Flagellate (Crithidia melophagi, n. sp.) in the Alimentary Tract of the Sheep-Tick (Melophagus

ovinus). Journ. Infect. Diseas. Vol. 6 p. 98—121, 3 pls. (Stud. zool. Lab. Univ. Nebraska No. 91.)

Thiroux, A. et L. d'Anfreville (1908): De l'action du sérum humain sur Trypanosoma Pecaudi Laveran. Différenciation de Tr. Pecaudi d'avec Tr. gambiense. C. R. Acad. Sc. Paris T. 147 p. 462—464. [Deux espèces bien distinctes.]

Thiroux, A., et L. Teppaz (1908): Traitement des trypanosomiases chez les chevaux par l'orpiment seul ou associé à l'atoxyl. C. R. Acad. Sc. Paris T. 147 p. 651—652.

Thiroux, A., R. Wurtz et L. Teppaz (1908): Rapport de la mission d'étude de la maladie du sommeil et des trypanosomiases animales sur la petite côte et dans la région des Niayes au Sénégal. Ann. Inst. Pasteur T. 22 p. 561—585, 3 figs.

Välikangas, I. et K. M. Levander (1907): Euglena sanguinea Ehrenb. Pohjois-Savossa. Meddel. Soc. Fauna Flora fennica Häft 33 p. 64—67.

Vallée, M. (1908): Les maladies infectieuses des Équidés dans le Haut Sénégal et le Niger. Rec. Méd. vétér. Paris T. 85 p. 387 - 388.

Van Durme, Paul (1905): Contribution à l'étude des trypanosomiases. La répartition des trypanosomes dans les organes. Ann. Soc. Méd. Gand Vol. 85 p. 231—244.

Weber und Fuerstenberg (1908): Zur Arsenbehandlung der experimentellen Nagana (Tsetse). Deutsch. med. Wochenschr. Jahrg. 34 p. 1131—1133.

Wenyon, C. M. (1908): A Trypanosome and Haemogregarine of a Tropical American Snake. Parasitology Vol. 1 p. 314—317, 1 pl.

Werner, Heinrich (1908): Über eine eingeißelige Flagellatenform im Darm der Stubenfliege. Arch. Protistenkunde Bd. 13 p. 19—22, 2 Taf. [Crithidia muscae domesticae.]

Wrublewski, K. J. (1908): Ein Trypanosoma des Wisent von Bielowesch. Centralbl. Bakt. Parasit. Abt. 1 Orig. Bd. 48 p. 162—163, 1 Taf.

Yakimoff, W. L. und Nina Kohl (1908): Zur Infektionsmöglichkeit der Hühner mit Dourinetrypanosomen. Centralbl. Bakt. Parasit. Abt. 1 Orig. Bd. 47 p. 483—486.

Zacharias, Otto (1907): Notiz über Cryptomonas nordstedtii (Hansg.) Lem. Arch. Hydrobiol. Planktonkunde Bd. 2 p. 362—363, 1 Fig.

II. Subkl.: *Choanoflagellata.*

III. Subkl.: *Cystoflagellata.*

IV. Subkl.: *Dinoflagellata.*

Apstein, C. (1909): Die Pyrocysteen der Plankton-Expedition. Ergebn. Plankton-Exped. Bd. 4 M. c. 27 pp., 2 Taf., 3 fig.

Chatton, Edouard (1908): Note préliminaire sur trois formes nouvelles du genre Blastodinium Chatton. Bull. Soc. zool. France T. 33 p. 134—137, 4 figs.

Fauré-Fremiet, E. (1908): Étude descriptive des Péridiniens et des Infusoires ciliés du plankton de la baie de la Hougue. Ann. Sc. nat. Zool. (9) T. 7 p. 209—240, 22 figs. [9 nn. spp. in: Glenodinium, Peridinium 6 (4 nn. varr.), Gonyaulax, Amphorella. 1 n. var. in Tintinnopsis.]

Kofoid, G. A. (1908): Exuviation, Autotomy and Regeneration in Ceratium. (Amer. Soc. Zool.) Science N. S. Vol. 27 p. 948.

Paulsen, Ove (1908): Peridiniales. Nordisches Plankton Lief. 8 No. 18, 124 pp., 155 figs. [Peridinium brevipes n. sp. P. latum n. nom. pro Gienodinium acutum Apstein non P. acutum Karsten, Gymnodinium lohmanni pro G. roseum Lohmann non Dogiel.]

III. Kl.: *Sporozoa.*

Allgemeines.

Chatton, Edouard et Emile Roubaud (1909): Sur un Amoebidium du rectum des larves de Simulies (Simulium argyreatum Meig. et S. fasciatum Meig.). C. R. Soc. Biol. Paris T. 66 p. 701—703.

Dobell, C. C.: cf. sub Allgemeines.

Krassilstschik, J. M. (1909): Über neue Sporozoen bei Insekten, die von Bedeutung für die Systematik der Sporozoen sind. Arch. Protistenkunde Bd. 14 p. 1—73, 6 Taf., 17 Fig. [Zwischenstufe zwischen Coccidien u. Myxosporidien: Duplicität der Entwicklungsgeschichte.]

Pérez, Ch. et Edouard Chatton (1908): Sur la reproduction et les affinités du Blastulidium paedophtorum.

Plehn, Marianne (1906): Über eigentümliche Drüsenzellen im Gefäßsystem und in anderen Organen bei Fischen. Vorläufige Mitteilung. Anat. Anz. Bd. 28 p. 192—203, 8 Fig. — Les „Stäbchendrüsenzellen" (M. Plehn) sont des Sporozoaires parasites, par E. Laguesse p. 414—416. — Drüsenzellen oder Parasiten? von Marianne Plehn. Vol. 29 p. 152—156.

de Saint-Joseph (1908): Sur un nouvel hôte des Haplosporidies du genre Urosporidium Caullery et Mesnil. C. R. Ass. franç. Av. Sc. Sess. 36 Pt. 1 p. 247; Pt. 2 p. 638. [Intestin de Syllis prolifera Kr.]

1. Subkl.: *Telosporidia.*

I. Ordn.: *Gregarinida.*

Awerinzew, S. (1908): Über die Gregarinen aus dem Darme Amphiporus sp. Zool. Anz. Bd. 33 p. 685, 1 Fig.

Cépède, Casimir (1907): Entretiens sur les Sporozoaires parasites des Insectes. II — Les Schizogrégarines. Feuille jeun. Natural. (4) Ann. 36 p. 217—222, 233—234, 31 figs.

Fantham, H. B. (1908): The Schizogregarines: A Review and a New Classification. Parasitology Vol. 1 p. 369—412, 10 figs. [Occurrence, general and detailed Morphologies and Life-Histories, Classification and Affinities. 4 nn. subsect.]

Henneguy, L. F. (1908): Sur une Grégarine parasite des Ophélies. C. R. Ass. franç. Av. Sc. Sess. 36 Pt. 1 p. 247; Pt. 2 p. 633—636, 6 figs. [Rhytidocystis n. g. opheliae n. sp.]

Hoffmann, Richard (1908): Über Fortpflanzungserscheinungen von Monocystideen des Lumbricus agricola. Arch. Protistenkunde Bd. 13 p. 139—166, 1 Taf., 6 Fig.

Kerr, A. F. G.: cf. sub Allgemeines.

Léger, L. et O. Duboscq (1908): L'évolution schizogonique de l'Aggregata (Eucoccidium) eberthi (Labbé). Arch. Protistenkunde Bd. 12 p. 45—108, 3 Taf., 9 Fig. [2 nn. spp. in Frenzelina n. g.]

— — (1909): La reproduction sexuée chez les Actinocéphalides. C. R. Acad. Sc. Paris T. 148 p. 190—193.

Porter, Annie (1908): A New Schizogregarine, Merogregarina amaroucii, nov. gen., nov. sp., parasitic in the alimentary tract of the composite Ascidian, Amaroucium sp. (Preliminary Communication.) Arch. Zool. expér. (4) T. 9 p. XLIV—XLVIII.

Ross, E. H. (1909): A Gregarine Parasitic in the Dog-Flea, Ctenocephalus serraticeps. Ann. trop. Med. Parasit. Liverpool Vol. 2 p. 359—363. [Gregarina ctenocephali canis n. sp.]

de Saint-Joseph (1908): Sur des spores tétrazoiques de Grégarine trouvés dans le coelome d'un annélide polychète (Eulalia parva St-J.) C. R. Ass. franç. Av. Sc. Sess. 36 Pt. 1 p. 247; Pt. 2 p. 636—638, 3 Fig.

II. Ordn.: *Coccidiida.*

Brugnatelli, Ernesto (1908): Observations sur une Coccidie (Klossiella muris) ayant donné occasion à une nouvelle doctrine sur la fonction rénale. Journ. Anat. Physiol. Ann. 44 p. 121—126. [Phénomènes de desquamation dans le rein décrits par Lelièvre, sur lesquels cet auteur a basé sa théorie nouvelle, sur la sécrétion holocrine de rein, ne seraient autre chose que formes diverses du cycle évolutif de Klossiella.]

Cole, Leon J. and Philip B. Hadley (1908): Blackhead, a Coccidial Disease of Turkeys. Science N. S. Vol. 27 p. 994. [C. cuniculi var.]

Fiebiger, J. (1907): Über Coccidien in der Schwimmblase von Gadus-Arten. Vorläufige Mitteilung. Ann. k. k. Hofmus. Wien Bd. 22 p. 124—128, 1 Fig. [Goussia gadi n. sp.]

— cf. sub Allgemeines.

Jollos, Victor (1909): Multiple Teilung und Reduktion bei Adelea ovata (A. Schneider). Arch. Protistenkunde Bd. 15 p. 249—262, 2 Taf. 1 Fig.

Léger, L. et O. Duboscq cf. sub Ciliata.

Lelièvre, Aug. (1908): Réponse au travail de M. Brugnatelli. Observations sur une Coccidie: „Klossiella muris“. Journ. Anat. Physiol. Ann. 44 p. 127—131. [Inclusion coccidienne ne peut être cause de toutes les variations structurales observées dans les canalicules urinaires.]

Marcone, G. (1908): Sporozoen-Dermatosen des Hundes. Zeitschr. Infektionskrankh. paras. Krankh. Hyg. Haustiere Bd. 4 p. 5—32, 4 Taf. [nn. spp. Dermosporidium canis Coccidium nudum (Kokzidiomorphe Doflein)]

Mesnil, F. (1908): Coccidie nouvelle, appartenant au genre Isospora Schneider = Diplospora Labbé. C. R. Ass. franç. Av. Sc. Sess. 36 Pt. 1 p. 253. [n. sp. in Isospora.]

Züblin, E. (1908): Beitrag zur Kenntnis der roten Ruhr des Rindes. Schweiz. Arch. Tierheilk. Bd. 50 p. 123—169, 10 Fig.

III. Ordn.: *Haemosporidiida.*

(Hierbei die Literatur über Malaria, Piroplasmose und ähnliche Krankheiten.)

BANKS, CHARLES S. (1907): Experiments in Malarial Transmission by Means of Myzomyia Ludlowii THEOB. Philippine Journ. Sc. Vol. 2 p. 513—535, 12 pls. [Determination of species of Anophelinae responsible for transmission of malaria.]

BETTENCOURT, A. et I. BORGES (1907): Note sur la Piroplasmose bovine en Portugal. Arch. Inst. bacter. Camara Pestana Lisbonne T. 1 p. 351—362, 2 pls.

BETTENCOURT, A., C. FRANÇA et I. BORGES (1907): Un cas de Piroplasmose bacilliforme chez le Daim. Arch. Inst. bacter. Camara Pestana Lisbonne T. 1 p. 341—349, 2 pls. [Theileria cervus n. sp.?]

BILLET, A. (1908): Preuves en faveur de la distinction spécifique des hématozoaires de la fièvre tierce et de la fièvre quarte. C. R. Ass. franç. Av. Sc. Sess. 36 Pt. 2 p. 654—664, 3 figs.

BLANCHARD, R. (1907): Le paludisme à Madagascar. Arch. Parasitol. T. 11 p. 185—201. — Discuss. p. 201—214.

BOUET, G. (1909): Sur deux hémocytozoaires pigmentés des reptiles. C. R. Soc. Biol. Paris T. 66 p. 43—45.

— (1909): Hémogrégarines de l'Afrique occidentale française. C. R. Soc. Biol. Paris T. 66 p. 741—743. Discuss. MESNIL.

BREINL, ANTON and H. E. ANNETT (1909): Short Note on the Mechanism of Haemolysis in Piroplasmosis canis. Ann. trop. Med. Parasit. Liverpool Vol. 2 p. 383 - 385.

BREINL, ANTON and EDWARD HINDLE (1908): Contributions to the Morphology and Life History of Piroplasma canis. Ann. trop. Med. Parasit. Vol. 2 p. 233—242, 4 pls.

BRUCKNER, JEAN (1908): Une modification pratique du procédé de ROMANOWSKY, pour le sang et le tréponème. (Réunion biol. Bucarest.) C. R. Soc. Biol. Paris T. 64 p. 968—969.

BRUTO DA COSTA, BERNARDO FRANCISCO (1906): Estudos sobre a etiologia da febre biliosa hemoglobinurica. Arch. Hyg. Pathol. exot. Lisboa Vol. 1 p. 218—273. [Produzida pelo hematozoario tropical (outomnoestival).]

CHAGAS, CARLOS (1908): Beitrag zur Malariaprophylaxis. Zeitschr. Hyg. Infektionskrankh. Bd. 60 p. 321—334, 1 Fig.

COHEN, SOLOMON SOLIS (1908): Observations on the Hypodermic Use of Quinine and Urea Hydrochloride in the Diagnosis and Treatment of Acute and Chronic Malarial Infections, and on the Resemblance to the Sexual Cycle of the Hemamoeba Manifested by the Periods of Freedom from Paroxysms that Ordinarily Follow a Single Injection of about One Gram of this Salt. Amer. Journ. med. Sc. Vol. 136 p. 344—360.

DEADERICK, WILLIAM H. (1908): The Pathogenesis of Pernicious Malaria. Med. Rec. New York Vol. 74 p. 140—143.

DIESING (1907): Die Bedeutung der Farbstoffe bei den Malariakrankheiten. Berlin. klin. Wochenschr. Jahrg. 44 p. 1388—1391. [Ähnliches Verhalten von Hämatozoon malariae und Chinin gegenüber Blutfarbstoff. Beide entziehen dem Organismus Farbstoffmengen. Da der Parasit Hämoglobin unbedingt benötigt, wird durch Chinin seine Entwicklung hintangehalten.

Aufsuchen von Stoffen, die mit Hb. sich verbinden und den Organismus weniger schädigen als Chinin (Schwefelverbindungen).]

Dobell, C. Clifford (1908): Some Notes on the Haemogregarines Parasitic in Snakes. Parasitology Vol. 1 p. 288—294, 1 pl. [Haemogregarinae from Boa constrictor, Python spilotes and Coluber quatuorlineatus. List of snakes infected with Haemogregarines.]

Durham, Herbert E. (1908): Notes on Nagana and on some Haematozoa observed during my Travels. Parasitology Vol. 1 p. 227—235.

Dutton, J. E., J. L. Todd and E. N. Tobey: cf. sub Allgemeines.

Eggebrecht (1908): Piroplasma canis. Zeitschr. Infektionskr. parasit. Krankh. Hyg. Haustiere Bd. 5 p. 129—132, 3 Taf.

— (1908): Über ein Pirosoma bei Schafen der Provinz Schantung. Zeitschr. Infektionskr. parasit. Krankh. Hyg. Haustiere Bd. 4 p. 290-291.

Flu, P. C. (1908): Untersuchungen über Affenmalaria. Arch. Protistenkunde Bd. 12 p. 322—330, 1 Taf.

Fölger, A. F. (1908): Demonstration eines Piroplasma bigeminum aus einem Falle der Hämoglobinurie beim Rinde. (Biol. Ges. Kopenhagen) Skand. Arch. Physiol. Bd. 20 p. 435—436.

França, C. (1908): Quelques notes sur l'Haemogregarina splendens (Labbé). Arch. Inst. bacter. Camara Pestana Lisboa T. 2 p. 123—131, 1 pls., 12 figs. [Dualisme nucléaire]

Hadjimichalis, M. and Jean P. Cardamatis (1908): Report on the Work of the Greek Antimalaria League during the year 1907. Ann. trop. Med. Parasit. Vol. 2 p. 133—145.

Hahn, C. W. (1908): Some Stages in the Life History of Haemogregarina stephanovi, Danilewskya, of Turtle's Blood. (Amer. Soc. Zool.) Science N. S. Vol. 27 p. 441—442. [Alternation of sexual with asexual generation.]

Henrique de Beaurepaire Aragao (1908): Über den Entwicklungsgang und die Übertragung von Haemoproteus columbae. Vorläufige Mitteilung. Arch. Protistenk. Bd. 12 p. 154—167 3 Taf.

Jensen, Vilh. (1908): Vorzeigung eines Präparats aus Vogelblut mit einem Leukocytozoon. (Biol. Ges. Kopenhagen) Skand. Arch. Physiol. Bd. 20 p. 439. [Sporozoon in den weißen Blutkörperchen eines Grünfinken.]

Jones, W. H. S. (1908): Malaria and History. Ann. trop. Med. Parasit. Vol. 1 p. 527—546.

Kerr, A. F. G.: cf. sub Allgemeines.

Klemensiewicz, R. (1907): Über Malaria. Mitt. nat. Ver. Steiermark Bd. 43 p. 309—317.

Körmöczi, Emil (1908): Beiträge zu den Malariaverhältnissen in Budapest und zur Lehre der Frühjahrsmalaria. Centralbl. Bakt. Parasit. Abt. 1 Orig. Bd. 48 p. 406—412.

Laveran, A. (1908): Sur une hémogrégarine de la Couleuvre argus. C. R. Acad. Sc. Paris T. 147 p. 103—106, 10 figs.

Laveran, A. et A. Pettit (1908): Contribution à l'étude de Haemogregarina lacertae Danilewsky et Chalachnikow. C. R. Acad. Sc. Paris T. 147 p. 1257—1260 1 fig.

— — (1908): Sur les formes de multiplication endogène de Haemogregarina lacertae. C. R. Acad. Sc. Paris T. 147 p. 1378—1382 1 fig.

LAVERAN, A. et SALIMBENI (1909): Sur une hémogrégarine de Tupinambis teguixin L. C. R. Acad. Sc. Paris T. 148 p. 132—134 7 figs. [Haemamoeba tupinambis n. spec.]

LESAGE, J. et E. SOLANET (1908): Sur les caractères et la fréquence de „Haemogregarina leptodactyli", dans le sang des grenouilles de l'Argentine. C. R. Soc. Biol. Paris T. 65 p. 295—296.

LEVADITI, C. et L. NATTAN-LARRIER (1909): La réaction des lipoides dans la piroplasmose canine. C. R. Soc. Biol. Paris T. 66 p. 157—159. [Provocation de modifications du sérum appréciable par procédé de fixation du complément. (Piroplasma et trypanosomes.)]

LICHTENHELD, G. (1908): Ergebnisse der von R. KOCH ausgeführten und vorgezeichneten Forschungen über das Küstenfieber der Rinder in Deutsch-Ostafrika. Zeitschr. Hyg. Infektionskrankh. Bd. 61 p. 261—271 1 Taf. 1 Fig.

MARZINOWSKY, E. J. (1909): Über die Züchtung von Piroplasma equi. Zeitschr. Hyg. Infektionskrankh. Bd 62 p. 417—422 1 Taf.

MARSHALL, D. G. (1905): Notes on Tropical Diseases. Edinburgh med. Journ. Vol. 60 p. 342—345. [Treatment of Guinea-Worm. Haemogregarina balfouri in Mammals.]

MAYER, MARTIN (1908): Über Malariaparasiten bei Affen. Verh. Ges. deutsch. Nat. Ärzte Vers. 79 T. 2 Hälfte 2 p. 546—547. — Arch. Protistenk. Bd. 12 p. 314—321 1 Taf.

MAZZARELLI, GIUSEPPE (1907): Sulle affinità del gen. Branchiophaga MAZZ. Atti Congr. Natural. ital. 1906 p. 570—571.

MESNIL, F. et E. BRIMONT (1908): Sur un hématozoaire nouveau (Endotrypanum n. gen.) d'un Edenté de Guyane. C. R. Soc. Biol. Paris T. 65 p. 581—583 7 figs. [Parasite intracellulaire. Type intermédiaire entre Trypanosoma et Hémocytozoaires, moins éloigné que Leishmania du type Trypanosoma.]

MEZINCESCU, D. (1909): Evolution des Ookynètes d'Haemoproteus dans l'intestin des moustiques. (Réun. biol. Bucarest.) C. R. Soc. Biol. Paris T. 66 p. 329 —330 7 figs.

— (1909): Leucocytozoon Ziemmanni et trypanosomes chez l'épervier (Falco nisus). (Réun. biol. Bucarest) C. R. Soc. Biol. Paris T. 66 p. 328—329.

MILLER, W. W. (1908): Hepatozoon perniciosum (n. g., n. sp.); a Haemogregarine Pathogenic for White Rats; with a Description of the Sexual Cycle in the Intermediate Host, a Mite (Lelaps echidninus). Bull. No. 46 Hygienic Lab. Treasury Dept. Washington 51 pp. 20 pls.

MINCHIN, E. A. (1908): On a Haemogregarine from the Blood of a Himalayan Lizard (Agama tuberculata). Proc. zool. Soc. London 1907 p. 1098—1104 2 pls. [H. thomsoni.]

NAVARRE, P. JUST. (1907): La doctrine anophélienne et la prophylaxie pratique du paludisme. Mém. Acad. Sc. Lyon (3) T. 9 p. 325—340. — Discussion sur le paludisme par P. AUBERT p. 341—366.

NEUMANN, R. O. (1908): Die Übertragung von Plasmodium praecox auf Kanarienvögel durch Stegomyia fasciata und die Entwicklung der Parasiten im Magen und den Speicheldrüsen dieser Stechmücke. Arch. Protistenk. Bd. 13 p. 23—69 3 Taf. [Erstmalig beobachtete Übertragung des Proteosoma durch St. fasciata. Fortpflanzungsverhältnisse.]

NICOLLE, C. et L. MANCEAUX (1909): Sur un Protozoaire nouveau du Gondi. C. R. Acad. Sc. Paris T. 148 p. 369—372. [Toxoplasma n. g. gondii n. sp.]

Nuttall, George H. F. (1908): The Mode of Multiplication of Piroplasma Bovis, P. pitheci in the Circulating Blood Compared with that of P. canis, with Notes on Other Species of Piroplasma. Parasitology Vol. 1 p. 134—151 1 pl. 4 figs.

Nuttall, George H. F. and G. S. Graham-Smith (1908): Notes on the Drug Treatment of Canine Piroplasmosis. Parasitology Vol. 1 p. 220—226.

— — (1908): The Development of Piroplasma canis in Culture. Parasitology Vol. 1 p. 243—260 1 fig.

Patton, W. S. (1908): The Haemogregarines of Mammals and Reptiles. Parasitology Vol. 1 p. 318—321.

Phillips, James McIlvaine and Eugene Franklin McCampbell (1908): Infectious Jaundice due to Piroplasma commune. Preliminary communication. Centralbl. Bakt. Parasit. Abt. 1 Orig. Bd. 47 p. 592—608 1 pl. 4 figs.

Plehn, A. (1908): Malaria und Chinin. Verh. Ges. deutsch. Nat. Ärzte Vers. 79 T. 2 Hälfte 2 p. 539—541.

Porter, Annie (1908): Leucocytozoon musculi, sp. n., a Parasitic Protozoon from the Blood of White Mice. Proc. zool. Soc. London 1908 p. 703—716, 1 pl. 1 fig.

Prowazek, S. (1908): Über Hämogregarinen aus Porocephalus moniliformis. Zool. Anz. Bd. 33 p. 465—466 2 Fig.

Robertson, M.: cf. sub Allgemeines.

Rose, A. (1908): Malaria in Greece. New York med. Journ. Vol. 88 p. 259—260.

Sambon, Louis W. (1909): Haemogregarines and „Parasitology". Journ. trop. Med. Vol. 12 p. 111—115.

Satterlee, G. R. (1908): A Case of Pernicious Malaria with Autopsy. (New York Acad. Med.) Med. Rec. New York Vol. 73 p. 709.

Schilling, Cl.: cf. sub Allgemeines.

Sergent, Edmond et Étienne Sergent (1908): Sur la structure fine des sporozoites de Plasmodium relictum Grassi et Feletti (= Proteosoma). C. R. Acad. Sc. Paris T. 147 p. 439—441 4 figs.

Swingle, Leroy D. (1908): On the Similarity Between Blood-Platelets and Certain Hematozoa. (Stud. zool. Lab. Univ. Nebraska No. 81.) Journ. Infect. Diseases Vol. 5 p. 46—54 1 pl.

Theiler, A. (1908): Weitere Versuche, das Ostküstenfieber durch Zecken zu übertragen. Zeitschr. Infektionskr. parasit. Krankh. Hyg. Haustiere Bd. 4 p. 265—278. [Hauptsächlichster Wirt von Piroplasma parvum ist Rhipicephalus appendiculatus. Übertragung erfolgt durch Nymphe oder Imago. Entwicklungszyklus von Piroplasma geht nicht durch das Ei der Zecke.]

Thiroux, A. et A. Teppaz (1908): Sur le Leucocytozoon piroplasmoides Ducloux, de la lymphangite épizootique des Equidés. C. R. Acad. Sc. Paris T. 147 p. 1075—1076.

Trautmann, Arno (1908): Einheimische Malaria in Leipzig. München. med. Wochenschr. Jahrg. 55 p. 2136.

Viereck, H. (1908): Über fieberhafte Anämie im Anschluß an Malaria. Verh. Ges. deutsch. Nat. Ärzte Vers. 79 T. 2 Hälfte 2 p. 541.

Wellmann, F. Creighton (1908): Clinical Charts of a Case of Quartan Malarial Fever Observed in West Africa, with Commentary. Med. Rec. New York Vol. 73 p. 1021—1023.

WELLS, R. T. (1906): Demonstration of the Asexual Cycle of the Benign Tertian Parasite in Blood-films from a Case of Quotidian Ague. (Glasgow path. clin. Soc.) Glasgow med. Journ. Vol. 65 p. 47—49.

WEYDEMANN, H. (1906): Die Malaria im nördlichen Jeverlande. Centralbl. Bakt. Parasit. Abt. 1 Orig. Bd. 43 p. 80—88.

WOODCOCK, H. M. (1909): On the Occurrence of Nuclear Dimorphism in a Halteridium parasitic in the Chaffinch, and the probable connection of this parasite with a Trypanosome. Quart. Journ. micr. Sc. Vol. 53 p. 339—349. [Halteridium probably a stage in life-history of a Trypanosome.]

ZUPITZA (1907): Über mechanischen Malariaschutz in den Tropen. Arch. Schiffs-Tropenhyg. Bd. 11 p. 179—196, 225—240, 257—272 11 Fig.

II. Subkl.: ***Neosporidia.***

I. Ordn.: *Myxosporidia.*

(Incl. *Microsporidia.*)

ANON. (1907): Les maladies des poissons d'eau douce d'après le traité du professeur HOFER. Ann. forestières T. 46 p. 228—232, 385—392, 522—529, 545—552, 585—592, 15 figs.

AUERBACH, M. (1909): Bericht über eine Studienreise nach Bergen (Norwegen). Verh. nat. Ver. Karlsruhe Bd. 21 p. 37—71, 2 Taf. [Myxosporidien aus Fischen. 3 nn. spp. in: Leptotheca, Myxidium, Sphaeromyxa.]

— (1909): Bemerkungen über Myxosporidien. Zool. Anz. Bd. 34 p. 65—81, 6 Fig. [3 nn. spp. in: Myxobolus, Leptotheca, Myxidium.]

AWERINZEW, S. (1909): Studien über parasitische Protozoen. I. Die Sporenbildung bei Ceratomyxa drepanopsetta mihi. Arch. Protistenkunde Bd. 14 p. 74—112, 2 Taf.

— (1909): Studien über parasitische Protozoen. II. Lymphozystis johnstonei WOODC. und ihr Kernapparat. Arch. Protistenkunde Bd. 14 p. 335—362, 16 Fig.

FIEBIGER, J. cf. sub Allgemeines.

KEYSSELITZ, G. (1908): Über durch Sporozoen (Myxosporidien) hervorgerufene pathologische Veränderungen; mit mikroskopischen Demonstrationen. Verh. Ges. deutsch. Nat. Ärzte Vers. 79 T. 2 Hälfte 2 p. 542—543.

LÉGER, L. et O. DUBOSCQ (1909): Sur une microsporidie parasite d'une Grégarine. C. R. Acad. Sc. Paris T. 148 p. 733—734. [Nosema frenzeliana n. sp.]

— (1909): Sur les Chytridropsis et leur évolution. Arch. Zool. expér. (5) T. 1 p. IX—XIII, 2 fig. [4 nn. spp.]

MARZOCCHI, VITTORIO (1909): Sul parassita del giallume del Bombyx mori. Microsporidium polyedricum BOLLE). Arch. Parasitol. T. 12 p. 456—466, 1 fig.

MERCIER, L. (1906): Phénomènes de sexualité chez Myxobolus Pfeifferi. Note préliminaire. (Réunion biol. Nancy.) C. R. Soc. Biol. Paris T. 60 p. 427—428. [Anisogamie à la base de la formation des spores.]

PACE, DOMENICO (1908): Parasiten und Pseudoparasiten der Nervenzelle. Vorläufige Mitteilungen über vergleichende Parasitologie des Nervensystems. Zeitschr. Hyg. Infektionskrankh. Bd. 60 p. 62—74, 4 Taf.

PÉREZ, CHARLES (1908): Sur Duboscqia legeri. Microsporidie nouvelle parasite du Termes lucifugus, et sur la classification des Microsporidies. C. R. Soc. Biol. Paris T. 65 p. 631—633.

Robertson, M. cf. sub Euflagellata.
Schröder, Olaw (1909): Thelohania chaetogastris, eine neue in Chaetogaster diaphanus Gruith schmarotzende Microsporidienart. Arch. Protistenkunde Bd. 14 p. 119—133, 1 Taf.
Stempell, [W.] (1908): Die Pébrine-Krankheit der Seidenraupe. Sitz.-Ber. naturnist. Ver. preuß. Rheinl. Westfalen 1907 C p. 14—17.
— (1909): Über die Entwicklung von Nosema bombycis Naegeli. Zool. Anz. Bd. 34 p. 316—318, 1 Fig.

II. Ordn.: *Sarcosporidia.*

Kerr, A. F. G. cf. sub Allgemeines.
Moussu et Coquot (1908): Sur un cas de sarcosporidiose du cheval. Rec. Méd. vétér. Paris T. 85 p. 445—457.
Negri, A. (1908): Beobachtungen über Sarkosporidien. Centralbl. Bakt. Parasit. Abt. 1 Orig. Bd. 47 p. 56—61, 612—622 3 Taf.
Perrin, W. S. (1907): Note on the Possible Transmission of Sarcocystis by the Blow-Fly. Spolia Zeylanica Vol. 5 p. 58—61 1 pl.
Willey, Arthur, Albert J. Chalmers and Wm. Marshall Philip (1904): Report on Parasites in the Carcases of Buffaloes at the Colombo Slaughter House. Spolia Zeylanica Vol. 2 p. 65—72 1 pl. [Sarcocystis tenella bubali.]

IV. Kl.: ***Infusoria.***

I. Subkl.: ***Ciliata***

(inkl. Opalinidae).

Bardeen, Charles R. (1907): The Action of the X-Rays on Paramecia. (Proc. Ass. Amer. Anat.) Amer. Journ. Anat. Vol. 6 Anat. Rec. p. 59—60. [Great resistance to Roentgen rays.]
de Beauchamp, P. (1909): Notes faunistiques: Infusoires du poumon des Holothuries à Banyuls. Bull. Soc. zool. France T. 34 p. 6—7.
Brodsky, Abraham (1908): Observations sur la structure intime de Frontonia leucas Ehrbg. Rev. suisse Zool. T. 16 p. 75—130 2 pls. [Ectoplasme, trichocystes (différenciés en tête, col et corps), formations buccales, noyaux etc.]
Caullery, M. et F. Mesnil (1908): Sur l'appareil nucléaire d'un infusoire (Rhizocaryum concavum n. g. n. sp.) parasites de certaines Polydores (P. caeca et P. flava). C. R. Ass. franç. Av. Sc. Sess. 36 Pt. 1 p. 250—251 1 fig.
Cépède, C. (1908): Remarques à propos des communications de MM. Caullery et Mesnil, et Fauré-Fremiet et description d'Anoplophrya alluri infusoire astome parasite de l'intestin d'Allurus tetraedrus Sav. C. R. Ass. franç. Av. Sc. Sess. 36 Pt. 1 p. 251. [n. sp. in Anoplophrya.]
— (1908): Sur un nouvel Infusoire Astome, parasite des testicules des Étoiles de mer. — Considérations générales sur les Astomata. C. R. Ass. franç. Av. Sc. Sess. 36 Pt. 1 p. 258. [Orchidophrya stellarum, n. g. n. sp.]
Cockerell, T. D. A. cf. sub Allgemeines.
Cohnheim, Paul (1909): Infusorien bei gut- und bösartigen Magenleiden nebst Bemerkungen über die sogenannte Infusorienenteritis. Deutsch. med. Wochenschr. Jahrg. 35 p. 92—95.

Collin, B. (1909): La conjugaison d'Anoplophrya branchiarum (Stein) (A. circulans Balbiani). Arch. Zool. expér. (5) T. 5 p. 345—388 2 pls.

Comes, Salvatore (1909): Quelques observations sur l'hémophagie du Balantidium entozoon Ehr. en relation avec la fonction digestive du parasite. Arch. Protistenk. Bd. 15 p. 54—92 1 Taf. 7 Fig.

— (1909): Osservazioni sulla emofagia del Balantidium entozoon Ehr. in relazione alla funzione digestiva di questo parassita (Sunto). Monit. zool. ital. Ann. 20 p. 94—95.

Cull, Sara Shite (1907): Rejuvenescence as the Result of Conjugation. Journ. exper. Zool. Vol. 4 p. 85—90. [Conjugation of Paramacium incipient metazoan fertilization. Restored vitality of conjugants and descendants.]

Daniel, J. Frank (1908): The Acclimatization of Stentor to Alcohol. (Amer. Soc. Zool.) Science N. S. Vol. 27 p. 443.

Dobell, Clifford C. (1909): Some Observations on the Infusoria Parasitic in Cephalopoda. Quart. Journ. micr. Sc. Vol. 53 p. 183—199 1 pl.

— cf. sub Allgemeines.

Doflein, F. (1908): Beobachtungen und Ideen über die Conjugation der Infusorien. Sitz.-Ber. Ges. Morphol. Physiol. München Bd. 23 p. 107—114 7 Fig.

Enriques, Paolo (1908): Die Conjugation und sexuelle Differenzierung der Infusorien. Zweite Abhandlung: Wiederconjugante und Hemisexe bei Chilodon. Arch. Protistenk. Bd. 12 p. 213—276 2 Taf. 6 Fig.

Fauré-Fremiet, Emmanuel (1906): Le commensalisme spécifique chez les Vorticelles d'eau douce. C. R. Soc. Biol. Paris T. 61 p. 456—458.

— (1908): L'Anoplophrya striata (Dujardin). C. R. Ass. franç. Av. Sc. Sess. 36 Pt. 2 p. 653—654.

— (1908): L'Ancystropodium maupasi (nov. gen. nov. sp.). Arch. Protistenk. Bd. 13 p. 121—138 7 figs. [Hypotrichine fixée à l'aide d'un pédicule.]

— (1908): Sur le „Strobilidium gyrans“. (Note préliminaire.) C. R. Ass. Anat. 10 Réun. Marseille p. 32—35.

— (1908): Les conditions organiques du comportement chez le Stylonichia mytilus. (Note préliminaire.) Bull. Inst. gén. psychol. Ann. 8 p. 137—142. [Différents mouvements. Galvano-Thigmotropisme.]

— (1909): Constitution du macronucleus des Infusoires ciliés. C. R. Acad. Sc. Paris T. 148 p. 659—661.

— (1909): La structure physicochimique du macronucleus des Infusoires ciliés. Bull. Soc. zool. France T. 34 p. 55—56 1 fig. [Examen ultramicroscopique.]

— cf. sub Dinoflagellata.

Fiebiger, J. cf. sub Allgemeines.

Glaessner, K. (1908): Über Balantidienenteritis. Centralbl. Bakt. Parasit. Abt. 1 Orig. Bd. 47 p. 351—362. [Morphologie des Parasiten. Krankheitsbild. Experimentelles über Balantidien (Proteolytisches Ferment nicht nachweisbar). Diastase und Hämolysin vorhanden. Specifische Sera gegen Balantidien.]

Gregory, Louise Hoyt. (1909): Observations on the Life History of Tillina magna. Journ. exper. Zool. Vol. 6 p. 383—432 3 figs. 2 pls.

Hausmann, W. und W. Kolmer (1907): Über die Einwirkung kolloidaler Gifte auf Paramäcien. Biochem. Zeitschr. Bd. 3 p. 503—507. [Kolloidaler Charakter bewirkt nicht Giftwirkung. Einwirkung der Temperatur.]

Holmes, S. J. (1907): Rhythmical Activity in Infusoria. Biol. Bull. Vol. 13 p. 306—308. [Without extraneous cause.]

Issel, Raffaele (1906): Intorno alla struttura ed alla biologia dell'infusorio Trichodinopsis paradoxa Clap. e Lachm. Ann. Mus. Stor. nat. Genova (3) Vol. 2 p. 334—357 2 tav. 6 fig.

Jennings, H. S. (1908): Heredity, Variation and Evolution in Protozoa. II. Heredity and Variation of Size and Form in Paramecium, with Studies of Growth, Environmental Action and Selection. Proc. Amer. philos. Soc. Vol. 47 p. 393—546 7 figs.

— (1909): Heredity and Variation in the Simplest Organism. Amer. Natural. Vol. 43 p. 321—337.

Kaas, Joseph (1908): Structure et fonctions biologiques du réseau endoplasmique du Paramaecium Aurelia. Mem. pontif. Accad. nuovi Lincei Vol. 26 p. 109—156.

Kerr, A. F. G. cf. sub Allgemeines.

Kiernik, E. (1909): O wymoczku pasorzytniczym Chilodon hexastichus nov. spec., wraz z uwagami nad powstawaniem bańki odżywczej i podziałem komórki. — Chilodon hexastichus nov. sp., ein auf Süßwasserfischen parasitierendes Infusorium, nebst Bemerkungen über Vakuolenhautbildung und Zellteilung. Bull. intern. Acad. Sc. Cracovie 1909 p. 75—119 3 fig.

Lebedew, W. (1908): Über Trachelocerca phoenicopterus Cohn. Ein marines Infusor. Arch. Protistenk. Bd. 13 p. 70—114 2 Taf. 7 Fig. [Kernteilungsmodus.]

Léger, L. et O. Duboscq (1909): Protozoaires parasites de l'intestin du Homard. C. R. Acad. Sc. Paris T. 148 p. 363—365. [2 nn. spp. in: Anoplophrya Selenococcidium n. g.]

Loewenthal, Waldemar (1908): Notizen über Opalina ranarum nebst Bemerkungen über die Unterscheidung von Erythro- und Cyanochromatin. Arch. Protistenk. Bd. 13 p. 115—120 1 Fig.

Manson, Patrick and Louis W. Sambon (1909): A Case of Intestinal Pseudoparasitism due to Chilodon uncinatus (Blochmann). Lancet Vol. 176 p. 832—834 7 figs.

Mast, S. O. (1909): The Reactions of Didinium nasutum (Stein) with Special Reference to the Feeding Habits and the Function of Trichocysts. Biol. Bull. Vol. 16 p. 91—118 18 figs.

— cf. sub Allgemeines.

McClendon, J. F. (1908): The Effects of Prolonged Centrifugal Force on Paramoecium. (Proc. Amer. Physiol. Soc.) Amer. Journ. Physiol Vol. 21 p. XIV.

— cf. sub Allgemeines.

Mengarini, Margherita e Alberto Scala (1907): Azione del cloruro di sodio sullo opaline. Arch. Fisiol. Vol. 4 p. 605—618.

Metcalf, Maynard M. (1908): Opalina. Its Anatomy and Reproduction. with a Description of Infection Experiments and a Chronological Review of the Literature. Arch. Protistenk. Bd. 13 p. 195—378 14 Taf. 17 Fig.

Nagai, H. (1906): Der Einfluß verschiedener Narcotica, Gase und Salze auf die Schwimmgeschwindigkeit von Paramaecium. Zeitschr. allg. Physiol. Bd. 6 p. 195—212 1 Taf. 2 Fig.

NERESHEIMER, EUGEN (1908): Zur Fortpflanzung eines parasitischen Infusors. (Ichthyophthirius.) Sitz.-Ber. Ges. Morphol. Physiol. München Bd. 23 p. 102—106.

Noc, F. (1908): Un cas de dysenterie à Balantidium chez le Macacus cynomolgus. C. R. Soc. Biol. Paris T. 64 p. 878—880 1 fig.

NOWIKOFF, M. (1908): Über die Wirkung des Schilddrüsenextrakts und einiger anderer Organstoffe auf Ciliaten. Arch. Protistenkunde Bd. 11 p. 309—325 9 Fig. [Anziehende Wirkung von Organstofflösungen. Fördernder (aber verschieden starker) Einfluß von Schilddrüsen- und Hypophysislösung auf Vermehrungsintensität.]

PETERS, AMOS W. (1908): The Biochemical Action of Copper Sulphate on Aquatic Microorganisms. (Amer. Soc. Zool.) Science N. S. Vol. 27 p. 909—910.

— (1908): Chemical Studies on the Cell and its Medium. — III. The Function of the Inorganic Salts of the Protozoan Cell and its Medium. Amer. Journ. Physiol. Vol. 21 p. 105—125.

POPOFF, METHODI (1908): Experimentelle Zellstudien. Arch. Zellforschung Bd. 1 p. 245—379 1 Taf. 24 Fig.

POYARKOFF, E. (1909): Cepedella hepatica, Cilié astome nouveau, parasite du foie des Cyclas. C. R. Soc. Biol. Paris T. 66 p. 96—97.

PROWAZEK, S. (1908): Zur Lebensgeschichte der Glaucoma. Zool. Anz. Bd. 33 p. 277 —279 8 Fig.

SMITH, STEVENSON (1908): The Limits of Educability in Paramoecium. Journ. comp. Neurol. & Psychol. Vol. 18 p. 499—510 4 figs.

WAGNER, GEORGE (1908): A Note on the Chemotaxis of Oxytricha aeruginosa. Biol. Bull. Vol. 14 p. 290—296.

WOODRUFF, LORANDE LOSS (1908): Effects of Alcohol on the Divison-Rate of Infusoria. (Amer. Soc. Zool.) Science N. S. Vol. 27 p. 442—443.

— (1908): The Life Cycle of Paramaecium when Subjected to a Vaiied Environment. Amer. Natural. Vol. 42 p. 520—526 1 fig.

— (1908): Effects of Alcohol on the Life Cycle of Infusoria. Biol. Bull. Vol. 15 p. 85—104 7 figs. [Effect on division rate and, therefore, on metabolism.]

— (1908): Increased susceptibility of protozoa to poison due to treatment with alcohol. Proc. Soc. exper. Biol. Med. Vol. 5 p. 82—83.

— (1908): The life cycle of Paramecium. Proc. Soc. exper. Biol. Med. Vol. 5 p. 124. [Much longer in duration of time and may comprise many more generations than when subjected to a constant culture medium of hay infusion.]

II. Subkl.: ***Suctoria.***

AMON (1909): The Life Cycle of Tachyblaston ephelotensis (Gen. et spec. nov.), with a possible identification of Acinetopsis rara, Robin. Quart. Journ. micr. Sc. Vol. 53 p. 378—389 2 pls. 5 figs.

ARMITAGE, R. W. (1908): A New Protozoon? Victorian Natural. Vol. 25 p. 135.

MARTIN, C. H. (1909): Some Observations on Acinetaria. Quart. Journ. micr. Sc. Vol. 53 p. 351—389, 629—664 3 pls. 13 figs.

SWARCZEWSKY, B. (1908): Über die Knospenbildung bei Acineta gelatinosa BUCK. Biol. Centralbl. Bd. 28 p. 441—445 8 Fig.

Protisten von fraglicher systematischer Stellung.

I. *Spirochäten.*

(Fraglich, ob zu den Flagellaten oder Bakterien gehörig. Hierbei die Literatur über die Spirochäten bei Recurrens, Tick-Fever, Angina Vincenti, Syphilis usw.)

Anastasiades, Sophokles J. (1908): Ein Fall von Febris recurrens. Centralbl. Bakt. Parasit. Abt. 1 Orig. Bd. 37 p. 466—471 1 Fig.

Barannikoff, Johannes (1909): Zur Technik der Versilberung von Spirochaete pallida (Schaudinn-Hoffmann). Centralbl. Bakt. Parasit. Abt. 1 Orig. Bd. 50 p. 263—267.

Branch, C. W. (1907): Yaws. Ann. trop. Med. Parasit. Vol. 1 p. 371—413.

Breinl, Anton (1907): On the Morphology and Life History of Spirochaeta duttoni. Ann. trop. Med. Parasit. Vol. 1 p. 433—438 1 pl.

Bruckner. J. cf. sub Mikroskopische Technik.

Brumpt, E. et Foley (1908): Existence d'une Spirochétose des Poules à Spirochaeta gallinarum, R. Bl., das le Sud-Oranais. Transmission de cette maladie par Argas persicus. C. R. Soc. Biol. Paris T. 65 p. 132—134.

Carter, G. Markham (1907): The Presence of Spirochaeta duttoni in the Ova of Ornithodoros moubata. Ann. trop. Med. Parasit. Vol. 1 p. 155—160 1 pl.

Cleland, J. Burton (1908): Note on Spirochaetes in Castration Tumors of Pigs. Parasitology Vol. 1 p. 218—219.

— (1909): On the Etiology of Ulcerative Granuloma of the Pudenda, with Clinical Description and Notes on Treatment by J. R. Hickinbotham. Journ. trop. Med. Hyg. Vol. 12 p. 143—150 14 figs. [Spirochaete aboriginalis n. sp.]

Deetjen, H. (1908): Spirochäten bei den Krebsgeschwülsten der Mäuse. München. med. Wochenschr. Jahrg. 55 p. 1167—1170 4 Fig.

Fraenkel, C. (1908): Geißelfäden an den Spirillen des Rekurrens- und des Zeckenfiebers. Centralbl. Bakt. Parasit. Abt. 1 Orig. Bd. 47 p. 471—472 1 Taf. [Besitz einer Anzahl seitenständiger Geißeln spricht für Bakteriennatur.]

Duval, Charles M. and John L. Todd (1909): A Note on the Cultivation of Spirochaeta duttoni. Lancet Vol. 176 p. 834—835.

Fraenkel, C. (1908): Impfversuche mit spirillenhaltigem Blut. Centralbl. Bakt. Parasit. Abt. 1 Orig. Bd. 47 p. 349—350. [Richtigstellung gegenüber Rabinowitsch.]

Galli-Valerio, Bruno (1908): Spirochétiase des poules déterminée à Lausanne avec Argas persicus Fischer de Tunisie. Note préliminaire. Centralbl. Bakt. Parasit. Abt. 1 Orig. Bd. 47 p. 494—495.

— (1909): Recherches sur la spirochétiase des poules de Tunisie et sur son agent de transmission: Argas persicus Fischer. Centralbl. Bakt. Parasit. Abt. 1 Orig. Bd. 50 p. 189—202 8 figs.

Gaucher, E. et Pierre Merle (1909): Constatation du Treponema pallidum dans le liquide céphalorachidien au cours de la syphilis acquise des centres nerveux. C. R. Acad. Sc. Paris T. 148 p. 862—863.

Gaylord, H. R. (1908): Die Beziehung von Spirochaeten zum Krebs der Mäuse. Berlin. klin. Wochenschr. Jahrg. 45 p. 2296—2297.

Gonder, Richard (1908): Spirochäten aus dem Darmtraktus von Pinna: Spirochaete pinnae nov. spec. und Spirochaete Hartmanni nov. spec. (Vorl. Mitteil.) Centralbl. Bakt. Parasit. Abt. 1 Orig. Bd. 47 p. 491—494 1 Taf.

— (1909): Die Stellung der Spirochäten unter den Protisten, zugleich ein Beitrag zur Kenntnis der Spirochaete pinnae. Centralbl. Bakt. Parasit. Abt. 1 Orig. Bd. 49 p. 190—196 2 Taf.

Grouven (1907): Nach Levaditi gefärbtes Schnittpräparat vom Kaninchenauge. (Niederrh. Ges. Natur. u. Heilk. Bonn.) Deutsch. med. Wochenschr. Jahrgang 33 p. 1973.

— (1908): Demonstration eines Falles von Actinomycose des Gesichts. Domonstration eines nach Levaditi gefärbten Schnittpräparates vom Kaninchenauge. Sitz.-Ber. naturhist. Ver. preuß. Rheinl.-Westfalen 1907 B p. 29—30.

— (1908): Über klinische Erscheinungen der Allgemeinsyphilis beim Kaninchen mit Demonstration mikroskopischer Präparate und positiver Kontrolimpfung beim Affen. Sitz.-Ber. niederrhein. Ges. Nat.-Heilk. 1908 B p. 25—27.

Hallopeau, M. (1908): Sur les différentes voies de propagation du tréponème pâle. (Acad. Méd.) Semaine méd. Ann. 28 p. 358.

Jancke (1908): Die Spirochaete pallida und der Cytorryctes luis. Therapeut. Monatsh. Jahrg. 22 p. 79—89. [Cyt. und nicht Spirochaeta ist Erreger der Syphilis.] — Bemerkungen von C. T. Noeggerath p. 89—96.

Kolle, W. (1909): Die Ergebnisse der neueren Forschungen über die Syphilisätiologie und Syphilisdiagnostik, im besonderen die Serumdiagnostik. Korr.-Bl. Schweiz. Ärzte Jahrg. 39 p. 33—45.

Küster, E. (1908): Demonstration von Spirochäten bei Gangraena pulmonum. Verh. Ges. deutsch. Nat. Ärzte Vers. 79 Tl. 2 Hälfte 2 p. 530.

Lang, Eduard (1908): Die Spirochaete pallida und die klinische Forschung, nebst Betrachtungen über Syphilistherapie auf Grund der jüngsten Forschungsergebnisse. Wien. klin. Wochenschr. Jahrg. 21 p. 1653—1657 1709—1712.

Lebailly, C. (1908): Contribution à l'étude du Treponema pallidum Schaudinn. Deux cas d'hérédo-syphilis. Ann. méd. Caën Ann. 33 p. 65—70 1 fig.

Levaditi, C. et L. Nattan-Larrier (1908): Contribution à l'étude microbiologique et expérimentale du Pian. Ann. Inst. Pasteur T. 22 p. 260—270 1 fig.

Levaditi, C. et A. Rosenbaum (1908): Actions des substances hémolytiques sur les Protozoaires, les Spirochètes et les Vibrions. Ann. Inst. Pasteur T. 22 p. 323—340. [Spirochètes se rapprochant plus des protozoaires que des bactériacées.]

Levaditi, C. et T. Yamanouchi (1908): Recherches sur l'incubation dans la syphilis. (Deuxième note.) C. R. Soc. Biol. Paris T. 64 p. 313—315 1 fig.

— — (1908): Récidive de la kératite syphilitique du lapin. Mode de division du tréponème. C. R. Soc. Biol. Paris T. 64 p. 408—410.

— — (1908): La transmission de la syphilis au chat. C. R. Acad. Sc. Paris T. 146 p. 1120—1122 1 fig.

van Loghem, J. J. (1908): Some Notes on the Morphology of Spirochaeta duttoni in the Organs of Rats. Ann. trop. Med. Parasit. Vol. 1 p. 521—525.

Mackie, F. Percival (1908): A Review of Recent Work on Spirillar Fevers. New York med. Journ. Vol. 88 p. 337—345.

MacLennan, Alex. (1906): Specimen of the Spirochaete pallida, with Remarks on the Method of Staining. (Glasgow med.-chir. Soc.) Glasgow med. Journ. Vol. 65 p. 201—207. By John H. Teacher p. 207—209.

— (1907): Demonstration of Spirochaetes from Syphilis, Yaws and Granuloma Pudendi, with Remarks upon the Protoplasmic Bodies in Syphilitic Material. (Glasgow med.-chir. Soc.) Glasgow med. Journ. Vol. 67 p. 148—153 4 figs.

Mathis, C. (1908): Recherches expérimentales sur la fièvre récurrente du Tonkin. C. R. Soc. Biol. Paris T. 64 p. 733—735.

McKenzie, Ivy (1908): The „Spirochaeta pallida" in the Lesions of Syphilis. (76th Meet. Brit. med. Ass.) Brit. med. Journ. 1908 Vol. 2 p. 1176.

McWeeney, E. J. (1905): Spirochaete in Syphilis. (R. Acad. Med. Ireland.) Dublin Journ. med. Sc. Vol. 120 p. 472—473.

Merzbach, Georg (1908): Syphilis. New York med. Journ. Vol. 88 p. 300—307.

Mettam, A. E. (1908): The Presence of Spirochaetes in Certain Infective Sarcomata of Dogs. Proc. Irish Acad. Vol. 27 p. 76—80 1 pl.

Mott, F. W. (1909): The Morison Lectures on the Pathology of Syphilis of the Nervous System in the Light of Modern Research. Brit. med. Journ. 1909 Vol. 1 p. 454—462 1 pl. 2 figs.

Mucha, Victor (1908): Über den Nachweis der Spirochaete pallida im Dunkelfelde. Med. Klinik Jahrg. 4 p. 1498—1500 3 Fig.

Mühlens, P. (1908): Über einige fieberhafte Tropenkrankheiten. Berlin. klin. Wochenschr. Jahrg. 45 p. 1631—1633. [Spirochäten, Leishmania, Kala-Azar-Parasiten.]

— (1908): Über Züchtung von anaëroben Microorganismen der Mundhöhle (u. a. Spirillum sputigenum). Centralbl. Bakt. Parasit. Abt. 1 Orig. Bd. 48 p. 523—528 1 Taf.

Mühlens, P. u. Löhe (1908): Über Züchtungsversuche der Spirochaete pallida. Centralbl. Bakt. Parasit. Abt. 1 Orig. Bd. 47 p. 487—490 1 Fig.

Nattan-Larrier, L. et C. Levaditi (1908): Recherches microbiologiques et expérimentales sur le pian. C. R. Soc. Biol. Paris T. 64 p. 29—31. [Différences entre le Spirochaeta pertenuis Castellani et Treponema pallidum.]

Neisser (1908): Pathologie und Therapie der Syphilis. (25. Kongr. inn. Med. Wien.) Wien. med. Wochenschr. Jahrg. 58 p. 1263—1266. — Zeitschr. physik. diätet. Therap. Bd. 12 p. 229—230.

Neumann, R. O. (1909): Über das Verhalten der Spirochäten des Rückfallfiebers im Tierkörper und die experimentelle Übertragung der Parasiten durch Zecken und Läuse. (Naturhist.-med. Ver. Heidelberg.) München. med. Wochenschr. Jahrg. 56 p. 477.

von Niessen (1908): Syphilis beim Kaninchen, erzeugt mit der Reinkultur des Kontagiums. Wien. med. Wochenschr. Jahrg. 58 p. 2524—2528. [Spirochäte Schaudinn's als Entwicklungsphase des Syphilisbacillus.]

Paul, E. (1909): Zur Kenntnis der fusiformen Bazillen und Zahnspirochäten. Deutsch. Monatsschr. Zahnheilk. Jahrg. 27 p. 24—40 28 Fig.

Proescher, Frederick (1909): Further Investigation of the Spirochaete lymphatica. Experimental Inoculations on Monkeys and Rats. New York med. Journ. Vol. 89 p. 848—852 13 figs.

Queyrat, M. (1908): Syphilis maligne précoce. (Soc. méd. Hopitaux.) Semaine méd. Ann. 28 p. 359.

QUINBY, WILLIAM C. (1908): The Demonstration of the Spirochaete pallida by the Method of Dark Field Illumination. Boston med. surg. Journ. Vol. 159 p. 175—176 2 figs.

RABINOWITSCH, MARCUS (1908): Impfversuche mit spirillenhaltigem Blut. Centralbl. Bakt. Parasit. Abt. 1 Orig. Bd. 46 p. 581—586 1 Taf.

RAVAUT, P. et A. PONSELLE (1908): Imprégnation du Spirochète pallida dans les frottis sur lanes au moyen de la largine (albuminate d'argent). C. R. Soc. Biol. Paris T. 65 p. 438—440. [Solution largine à 2%; y laisser lames fixées pendant deux heures à étuve à 55°; réduire dans acide pyrogallique à 5%. On colore ainsi sans précipités Spirochaetes, microbes, éléments cellulaires.]

REGAUD, CL. (1909): Sur une curieuse localisation de spirilles parasites dans les canalisations glandulaires de la muqueuse gastrique normale, chez le chien et le chat. C. R. Soc. Biol. Paris T. 66 p. 229—231 1 fig. [Rappelant spirochètes de syphilis.]

ROTHSCHUH, E. (1908): Die Syphilis in Zentralamerika. Verh. Ges. deutsch. Nat. Ärzte Vers. 79 Tl. 2 Hälfte 2 p. 548.

SABRAZÈS, J. et R. DUPÉRIÉ (1908): Spirochètes et lésions syphilitiques d'un foetus de six mois. Irido-cyclite spécifique. (Réunion biol. Bordeaux.) C. R. Soc. Biol. Paris T. 65 p. 452—453.

SCHELLACK, C. (1909): Studien zur Morphologie und Systematik der Spirochäten aus Muscheln. Arb. a. d. kais. Gesundheitsamt Berlin Bd. 30 p. 379—428 6 Taf. 5 Fig. [11. nn. spp.]

SCHMORL (1908): Mitteilung zur Spirochätenfrage. Jahresber. Ges. Naturheilk. Dresden 1906—07 p. 28—30, Diskuss. p. 33—36.

SIEBER cf. sub Allgemeines.

SIEDENTOPF, H. cf. sub Mikroskopische Technik.

SIMMONDS (1908): Über das Vorkommen von Spirochäten in zerfallenen Carcinomen. Verh. deutsch. path. Ges. 12 p. 116—120; Centralbl. allg. Path., path. Anat. Bd. 19 p. 407—408; Berlin. klin. Wochenschr. Jahrg. 45 p. 1037; München. med. Wochenschr. Jahrg. 55 p. 1103. [Kein Zusammenhang mit Krebsgenese.]

STANZIALE, RODOLFO (1909): Das Treponema pallidum in der syphilitischen Placenta. Centralbl. Bakt. Parasit. Abt. 1 Orig. Bd. 49 p. 551—553.

STRONG, RICHARD P. (1908): The Diagnosis of African Tick Fever from the Examination of the Blood. Philippine Journ. Sc. Vol. 3 p. 231—243.

SWELLENGREBEL, N. H. (1909): Neuere Untersuchungen über die vergleichende Cytologie der Spirillen und Spirochäten. Centralbl. Bakt. Parasit. Abt. 1 Orig. Bd. 49 p. 529—550 2 Taf. 4 Fig.

TAYLOR, M. LOGAN (1906): Description and Preparations of the Spirochaete pallida. (Glasgow path. clin. Soc.) Glasgow med. Journ. Vol. 65 p. 450—452.

THALMANN (1908): Syphilisgift, Syphilisimmunität und Syphilisbehandlung. Jahresber. Ges. Natur- u. Heilk. Dresden 1906—07 p. 30—32 Diskuss. p. 33—36.

TITZE, C. (1908): Spirillen und Spirochäten mit besonderer Berücksichtigung der tierpathogenen Spirochäten. (Sammelreferat.) Zeitschr. Infektionskrankh. parasit. Krankh. Hyg. Haustiere Bd. 4 p. 139—143.

WARD, HENRY B. (1908): The Spirochetes and their Relationship to Other Organisms. (Stud. zool. Lab. Univ. Nabraska No. 90.) Amer. Natural. Vol. 42 p. 374—387.

Waters, H. G. (1909): Bronchial Spirochaetosis in India. (Soc. trop. Med. Hyg.) Brit. med. Journ. 1909 Vol. 1 p. 600.

Werther (1907): Demonstration der Spirochaete pallida bei Syphilis. Jahresber. Ges. Natur- u. Heilk. Dresden 1905—06 p. 26.

— (1908): Die Ätiologie und Pathogenese der Syphilis. Bericht über die neuesten Forschungen. Jahresber. Ges. Natur- u. Heilk. Dresden 1906—07 p. 16—27, Diskuss. p. 33—36.

Zettnow (1907): Über Geißelzöpfe, Spirochaete polyspira und Planosarcina Schaudinni. Zeitschr. Hyg. Infektionskrankh. Bd. 58 p. 386—400 3 Taf. [Planosarcina Schaudinni keine besondere Art, sondern Stamm von Sarcina agilis.]

II. *Leishman-Donovan-Körper.*

(Fraglich, ob zu den Hämosporidien oder Trypanosomen gehörig. Hierbei die Literatur über Kala-Azar, Splenomegalie. Orientbeule, Aleppobeule usw. Gattung Herpetomonas cf. Euflagellata.)

Hunter, W. K. (1905): Specimen of the Leishman-Donovan Bodies. (Glasgow med.-chir. Soc.) Glasgow med. Journ. Vol. 64 p. 436—438.

Laveran, A. et A. Pettit (1909): Infections légères du rat et de la souris par la Leishmania Donovani. C. R. Soc. Biol. Paris T. 66 p. 911—913.

Marshall, D. G. and G. Lovell Gulland (1908): A Case of Kala-Azar. Lancet Vol. 175 p. 443—446 2 figs.

Masson, P. (1909): Les Leishmanioses. Rev. scient. Ann. 47 Sem. 1 p. 654—657.

Minchin, E. A. (1909): The Development of the Parasites of Oriental Sore in Cultures. Brit. med. Journ. 1909 Vol. 1 p. 842.

Muhlens, P. cf. sub Spirochäten.

Nicolle, Charles (1908): Culture du parasite du bouton d'orient. C. R. Acad. Sc. Paris T. 146 p. 842—843.

Nicolle, Charles et L. Manceaux (1908): Sur une infection à corps de Leishman (ou organismes voisins) du gondi. C. R. Acad. Sc. Paris T. 147 p. 763—766.

Novy, F. G. (1908): Successful canine infection with cultures of Leishmania infantum (Ch. Nicolle). Proc. Soc. expér. Biol. Med. Vol. 6 p. 26—27.

Reinhardt, Ad. (1908): Der Erreger der Aleppobeule (Orientbeule). [Leishmania tropica (Wright)] Histologie der Aleppobeule. Zeitschr. Hyg. Infektionskrankh. Bd. 62 p. 49—62 1 Taf. 1 Fig.

Rogers, Leonard (1908): A Peculiar Intralobular Cirrhosis of the Liver Produced by the Protozoal Parasite of Kala-Azar. Ann. trop. Med. Parasit. Vol. 2 p. 147—152 1 pl.

III. *Diverse.*

(Andere Protozoen, die zurzeit im System nicht sicher untergebracht werden können.)

Patella, Vincenzo (1908): Kurloff'sche Körper in Mononucleären des Meerschweinchens und ihre protozoische Natur. Berlin. klin. Wochenschr. Jahrg. 45 p. 1846—1847.

Pérez, Ch. (1908): Sur un parasite nouveau de la peau des Tritons. C. R. Ass. franç. Av. Sc. Sess. 36 Pt. 1 p. 257. [Dermocystis pusula n. g. n. sp.]

— (1908): Rectification de nomenclature à propos de Dermocystis pusula. C. R. Soc. biol. Paris T. 64 p. 738. [Dermocystidium n. nom. pro Dermocystis Pérez non Stafford.]

Pseudo-Protozoen?

(Hier Literatur über die fraglichen Erreger der Vaccine, Variola, Lyssa, Scharlach, Maul- und Klauenseuche, Syphilis, der perniciösen Geschwülste usw., soweit sie von den Autoren für Protozoen gehalten werden.)

Dürck, Hermann (1908): Über die feineren histologischen Veränderungen besonders des Nervensystems bei Beri-Beri. Verh. deutsch. path. Ges. 11 Dresden p. 325—332.

Elmassian, M. (1908): Contribution à l'étude microscopique de la cornée vaccinée chez le lapin. Corpuscules de la vaccine, „Initialkörper", Chlamydozoa etc. Centralbl. Bakt. Parasit. Abt. 1 Orig. Bd. 48 p. 207—216 1 Taf. [Grains intracorpusculaires de vaccine n'ont aucun des caractères d'êtres vivants. Corpuscules initiaux sont plutôt inclusions cellulaires que Chlamydozoa.]

Jancke: Cytorryctes, cf. sub Spirochäten.

Keysselitz, G. u. Martin Mayer (1909): Zur Ätiologie der Varicellen. Arch. Protistenk. Bd. 14 p. 113—117 1 Taf.

Lentz, O. cf. sub Mikroskopische Technik.

Negri, Adelchi (1905): Contributo allo studio dell' eziologia della rabbia. Atti Fondaz. Cagnola Milano Vol. 19 32 p. 2 tav. [Protozoo parassitico.] — Sull' eziologia della rabbia: La diagnosi della rabbia in base ai nuovi reperti. 27 p.

Van Gieson, I. cf. sub Mikroskopische Technik.

Lippert & Co. (G. Pätz'sche Buchdr.), Naumburg a. S.